

Helmut Stroh

TRANSPORT UND BINDUNG VON NEPHROTOXINEN
UND NEPHRITIS AUSLÖSENDE FAKTOREN BEI
DER EINSEITIGEN NIERENENTZÜNDUNG
DES KANINCHENS

Frankfurt am Main
1964

Aus der Abteilung für klinische Endokrinologie
(Leiter: Prof.Dr. E.F. Pfeiffer) der I. Medizinischen
Universitätsklinik Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. F. Hoff)

TRANSPORT UND BINDUNG VON NEPHROTOXINEN
UND NEPHRITISAUSLÖSENDE FAKTOREN BEI
DER EINSEITIGEN NIERENENTZÜNDUNG DES
KANINCHENS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät der
Johann Wolfgang Goethe - Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
H e l m u t S t r o h
aus Dreieichenhain, Kreis Offenbach a.M.

Frankfurt a.M. 1964



Dekan: Prof. Dr. J. Frey
1. Gutachter: Privatdozent Dr. K. Schöffling
2. Gutachter: Prof. Dr. W. Rotter

Tag der mündlichen Prüfung: 8.12.64

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent
Dr. med. K. S c h ö f f l i n g , I. Medizinische
Universitätsklinik, Frankfurt a.M., der mir das Thema
der Arbeit überließ. Seine Hilfe, seine Hinweise und
kritischen Einwände waren mir von großem Wert.

Herrn Prof. Dr. med. E. F. P f e i f f e r , Leiter
der Abteilung für klinische Endokrinologie
der I. Medizinischen Universitätsklinik, Frankfurt a.M.,
bin ich für zahlreiche Anregungen und Unterlagen zu
Dank verpflichtet.

Herrn Dr. med. K. F e d e r l i n aus der gleichen
Klinik und Herrn Prof. Dr. med. W. S a n d r i t t e r
aus dem Pathologischen Institut der Universitätskliniken
Frankfurt a.M. danke ich für die Beurteilung der
Nierenschnitte.

Zu Dank bin ich Frl. Dr. med. E. K r a u s
verpflichtet, die mich in die Technik des Gefrierschneidens
einführte.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

=====

- I. EINLEITUNG
- II. HISTORISCHER ÜBERBLICK
- III. METHODIK
 - 1. Erzeugung des nephrotoxischen Serums
 - a) Aufbereitung des Antigens
 - b) Sensibilisieren der Enten
 - 2. Die Methodik der Abklemmversuche
 - 3. Herstellung der Nierenschnitte
- IV. ERGEBNISSE
 - Ergebnisse der Versuchsgruppe A
 - Ergebnisse der Versuchsgruppe B
 - Ergebnisse der Versuchsgruppe C und D
 - Kontrollen
- V. DISKUSSION
- VI. ZUSAMMENFASSUNG
- VII. LITERATURVERZEICHNIS
- VIII. LEBENS LAUF

I. EINLEITUNG

Für jeden Arzt, der dem schweren Krankheitsbild der Glomerulonephritis in der Praxis, der Klinik und im Sektionssaal begegnet, ist es von Interesse zu erfahren, welche Ursachen diesen häufig unaufhaltsam fortschreitenden Veränderungen der Nieren zu Grunde liegen. Wenn heute noch die Pathogenese der chronischen Glomerulonephritis umstritten ist, so liegt dies sicher nicht daran, daß durch diese Krankheit nur wenige zur Forschung ihrer Entstehungsweise angeregt worden wären. Grund heftiger Diskussionen ist zum Teil die Mehrdeutigkeit vieler vorliegender Teilergebnisse eines komplexen Geschehens, dessen Analyse Anliegen der Immunbiologie ist.

In neuerer Zeit, nachdem die Überpflanzung einer Niere technisch möglich geworden ist, interessiert auch die Frage, ob durch die im Organismus belassene kranke Niere die Glomerulonephritis auf das transplantierte gesunde Organ übergreift. Gibt es einen Faktor, der die Glomerulonephritis von dem kranken auf das gesunde Organ überträgt ? Hat dieser Faktor, wenn er existiert, ätiologische Bedeutung ? Ist er identisch mit dem das Chronischwerden der Nephritis verursachenden Faktor ?

Klinischen Erfahrungen stehen z.Zt. differente experimentelle Ergebnisse gegenüber. Manche tierexperimentell gewonnenen Resultate widersprechen sich. So wurde bei nephritiskranken Menschen, denen eine geschädigte Niere durch das gesunde Organ ihres eineiigen Zwillingspartners ersetzt worden war, beobachtet, daß das Transplantat ebenfalls an einer Glomerulonephritis erkrankte. Pfeiffer und Mitarbeiter konnten die Übertragbarkeit der experimentellen Glomerulonephritis beweisen, indem sie nephritiskranke mit gesunden Ratten aus langjähriger Bruder - Schwester - Inzucht parabiotisch vereinigten.

Sarre und Wirtz dagegen nehmen auf Grund ihrer Versuche an der sogenannten "einseitigen" Nephritis an, daß von der erkrankten Niere keine schädigende Wirkung auf das gesunde Organ ausgeht.

In dieser Diskrepanz hat die vorliegende Arbeit ihre Quelle. Unser Anliegen war es, durch Reproduktion der Sarre'schen Versuche und sinnvoller Veränderungen und Erweiterung von Versuchsanordnung und Methodik die sich anscheinend widersprechenden Ergebnisse in Einklang zu bringen oder die Diskrepanzen aufzuklären.

II. HISTORISCHER ÜBERBLICK

Schon nach der Abgrenzung des morphologischen Bildes der Glomerulonephritis in den 70er Jahren des vorigen Jahrhunderts durch Klebs und Langhans, war man bestrebt, eine Glomerulonephritis im Tierexperiment zu erzeugen, um den Fortgang der Krankheit im Modell studieren zu können. Die skeptische Erwägung, daß sich jedes Modell vom Natürlichen entfernt, trat verständlicherweise hinter der elementaren Frage "mit welchen Mitteln ist die Glomerulonephritis im Tierversuch zu erzeugen?" zurück. Die Wahl der Substanzen war willkürlich, da die Vermutung, daß es sich bei der Glomerulonephritis um eine Reaktion der Nieren auf Streptokokken oder deren Toxine handelt, erst viel später auf Grund klinischer Beobachtungen der post-skarlatinösen Nephritis von Friedemann und Deicher (1928) ausgesprochen wurde.

Mit den "Nierengiften", mit denen Baehr und v.a. arbeiteten, konnte damals keine der menschlichen Glomerulonephritis ähnliche Krankheit erzeugt werden. Auch die direkte Injektion kleiner Mengen Urannitrat in die Nierenarterie, wie sie Baehr 1913 durchführte, erzeugte nach Fahr nur eine "herdförmige toxische Nephritis". Ebenso als "toxische, umschriebene Glomerulonephritis" muß die Nierenkrankheit bezeichnet und der durch Nierengifte zur Seite gestellt werden, die durch zahlreiche Versuche mit Bakterien und deren Wirkstoffen herbeigeführt wurde (Bailey, 1917).

Die Möglichkeit einer allergischen Genese der Glomerulonephritis wurde zum ersten Mal von Long und Finner (1928) erwogen, die, nachdem sie bei Schweinen eine Tuberkulose erzeugt hatten, Tuberkulin direkt in die Nierenarterie injizierten und damit eine diffuse Entzündung der Niere erhielten. Dieser Beobachtung sowie der Vermutung Escherichs und Schicks (1912), daß es sich bei der postskarlatinösen Nephritis möglicherweise

um eine allergische Reaktion der Niere auf das "Scharlachvirus" handele, widersprach Kuczynski (1920), der für die Reaktion der Glomerula nach Injektion von Streptokokken lokale zellulär-humorale Abwehrvorgänge verantwortlich machte.

Eine unseren heutigen Vorstellungen über die Entstehungsweise der Glomerulonephritis recht nahekommende Versuchsanordnung wählte Takenomata (1923): Er injizierte mit Scharlachstreptokokken vorbehandelten Kaninchen "in der Periode, in der die Immunisation entwickelt sein soll", das Toxin dieser Keime intravenös und erzielte Mischformen von Glomerulonephritis und Nephrose. Jedoch mißlang ihm wie auch seinen Nachfolgern eine der menschlichen Glomerulonephritis entsprechende Form zu erzeugen.

Von einer "der menschlichen durchaus vergleichbaren diffusen Glomerulonephritis beim Tier" sprach Fahr zum ersten Male nach Veröffentlichung der Arbeiten Masugis im Jahre 1931 u. 1932. - Masugi hatte zunächst (1927) mit Paramäzieren experimentiert, diese Kaninchen und Meerschweinchen injiziert und gefunden, daß das Serum dieser so sensibilisierten Tiere in der Lage war, bei Berührung lebende Paramäzieren zu lähmen oder gar abzutöten. Diese Beobachtung leitete ihn zu der Frage hin, welche morphologischen Veränderungen eines Organs durch intravenöse Injektion eines Antiserums, das spezifische Antikörper gegen dasselbe enthält, hervorgerufen würden. Unter dieser Fragestellung beginnt die Arbeit, die den Anfang der Untersuchungen Masugis über die später nach ihm benannte tierexperimentelle Nephritis darstellt.

Er sensibilisierte zunächst Kaninchen, indem er ihnen wiederholt Verreibungen von gründlich durchgespülter Niere und Leber der Ratte intraperitoneal injizierte.

Das in Kaninchen gebildete Anti-Rattennieren- und -leber-Serum wurde anschließend den Ratten als eigentlichen "Serumempfängern" intravenös injiziert. Da Masugi in seiner ersten Arbeit (1931) aber die Ratten bereits 24 Stunden nach Injektion dieses Serums tötete, fand er lediglich eine tropfige Entartung der Hauptstückzellen der Rattennieren jedoch keine glomerulären Veränderungen.

Von typisch glomerulonephritischen Veränderungen jedoch spricht Masugi in folgenden Veröffentlichungen (1931, 1932), in denen auch die Annahme zum Ausdruck kommt, "daß die spezifisch zytotoxische Läsion eines Organs eine umgekehrte lokale Anaphylaxie desselben ist." Er verwendete als Versuchstierpaare Kaninchen/Ratten bzw. Enten/Kaninchen und zog, nachdem sich die experimentell erzeugte Glomerulonephritis sowohl pathologisch-anatomisch als auch in ihren klinischen Symptomen mit der menschlichen Glomerulonephritis deckte, schon damals den Schluß, daß sich in der Niere als Folge der Nephrotoxininjektion eine gewebliche Veränderung abspielt, die mit den Gewebsläsionen der menschlichen Glomerulonephritis identisch ist..

Die sich bei Injektion heterologer Antiseren in den Nieren abspielende Antigen-Antikörperreaktion wurde von Masugi zu der von Escherich und Schick (1912) geäußerten Vermutung, daß es sich bei der postskarlatinösen Nephritis um eine allergische Reaktion handelt, in Parallele gesetzt. Die morphologisch faßbare Glomerulonephritis von Masugi war also "mit großer Wahrscheinlichkeit" das Ergebnis einer Reaktion dieser passiv übertragenen Antikörper mit dem Antigen "Niere" des Empfänger-tieres.

Die Beobachtungen Masugis waren jedoch eine Wiederentdeckung. Schon 1900 war es Lindemann gelungen, experimentell eine Nierenentzündung zu erzeugen, indem er Tieren einer Species Seren anderer Tiere, die mit Nierengewebe dieser Tierspecies sensibilisiert worden waren, injizierte. Er fand aber, ebenso wie seine Nachfolger, z.B. Pearce, der 1904 die Versuche Lindemanns in der Anordnung Kaninchen/Hund wieder aufgriff,

in den Nieren der Versuchstiere vorwiegend tubuläre Veränderungen und keine spezifisch glomerulären Schädigungen des Nierengewebes. Vielleicht lag dies daran, daß Lindemann zur Sensibilisierung nicht entblutete Nieren verwandte. Die Tiere, denen er das antikörperhaltige Serum injizierte, starben nach 3 bis 5 Tagen an einer Urämie.

Erst Wilson und Oliver (1917) machten darauf aufmerksam, daß auch das von Hämolsinen und Hämagglutininen befreite Nephrotoxin noch antigene Eigenschaften hat. Es gelang ihnen auch mit den von Hämolsinen und Hämagglutininen gereinigten nephrotoxischen Seren Schäden an den Glomerula zu setzen, aber nur in Form zahlreicher Nekrosen.

Masugis Verdienst besteht darin, die tierexperimentell von ihm erzeugte Glomerulonephritis als eine sowohl in ihrer klinischen Symptomatologie als auch hinsichtlich der pathologisch-anatomischen Befunde der menschlichen vergleichbare Erkrankung erkannt und auf deren allergischen Entstehungsmechanismus aufmerksam gemacht zu haben. - Tsuji (1936/37) schrieb über die Arbeiten Masugis: "Es unterliegt keinem Zweifel, daß es Masugi gelungen ist, ein Verfahren anzugeben, mit dem mit großer Sicherheit eine der menschlichen Glomerulonephritis vollkommen gleiche Glomerulonephritis zu erzeugen ist."

Allerdings fanden sich auch einige Forscher, die annahmen, es handele sich bei der Masugi-Nephritis um eine rein toxische Schädigung der Nieren und nicht um einen allergischen Entstehungsmechanismus. Jedoch sind deren Argumente heute überholt, nachdem man über die Antigennatur der Nierenemulsionen durch die folgenden Experimente orientiert ist.

So konnten Heymann und Mitarbeiter 1949 beweisen, daß das zur Erzeugung nephrotoxischer Seren wirksame Antigen seinen Sitz in der Nierenrinde und nicht im Mark hat, da sich mit letzterem nicht die Bildung nierenschädigender Sera hervorrufen ließ.

Zur gleichen Zeit konnten Pressman und Keighley mit Hilfe radioaktiv markierter Anti-Nieren-Antikörper den Nachweis erbringen, daß diese Antikörper vor allem in den Glomerula der Empfängertiere abgebunden werden. Markierte Globuline aus Normalseren dagegen ließen eine derartige Häufung in den heterologen Glomerula vermissen.

Die Erkenntnis von Swift und Smadel aus dem Jahre 1937, daß die gleichzeitige Gabe von nephrotoxischem Serum und Nierengewebs suspension des Empfängertieres die Entstehung der Glomerulonephritis verhindert oder die Erkrankung zumindest abschwächt, wurde von Solomon, Gardella, Fanger, Dethier und Ferrebee (1949) dahingehend präzisiert, daß sie die nephritisabschwächende oder gar verhindernde Wirkung als Eigenschaft der Suspensionen homologer Glomerula beweisen konnten. Glomerulumfreie Substanz dagegen war wirkungslos. Daraus zogen sie den Schluß, daß das für die Erzeugung einer Masugi-Nephritis wirksame Antigen in den Glomerula enthalten sein müsse.

Krakower und Greenspon (1951) sowie Greenspon, Bollinger und Krakower (1952) erbrachten schließlich noch den Beweis, daß die die Antikörperbildung provozierende Substanz ihren Sitz in der Basalmembran der Glomerula hat. Sie vermuteten, daß es sich bei der wirksamen Komponente der Basalmembran um deren Eiweißbestandteil handelt.

Die von Masugi vermutete Spezifität des Nephrotoxins bzw. seine Auffassung, daß allein nephrotoxisches Serum in der Lage sei, eine Glomerulonephritis zu erzeugen, scheint dagegen nicht den Tatsachen zu entsprechen. 1935 mußten bereits Masugi, Sato und Todo feststellen, daß ein aus Enten erhaltenes Anti-Kaninchenherz-Serum bei Kaninchen auch eine nierenschädigende Wirkung besaß. Tsuji (1936/37) beobachtete prinzipiell das gleiche bei

Verwendung eines myotoxischen Serums. Chikamitsu gelang einige Jahre später mit Anti-Lungenserum und Seegal und Loeb 1946 mit Anti-Placenta-Serum die Erzeugung einer Glomerulonephritis.

Pressman und Sherman (1951) vermochten zu zeigen, daß mit radioaktivem Jod markierte Antinieren-Antikörper nicht nur in den Nieren, sondern auch in anderen Organen, z.B. den Lungen abgebunden werden. In gleicher Weise gekennzeichnete Antilungen-Antikörper ließen sich u.a. auch in den Glomerula nachweisen. Strehler (1951) schließlich fand, daß Injektionen von Anti-Kaninchen-Aorten-Serum aus Meerschweinchen in Kaninchen eine typische Masugi-Nephritis entstehen ließ. Es ist auf Grund dieser Arbeiten wahrscheinlich geworden, daß den innersten Gefäßlagen vieler Organe und Gewebe eine antigene Wirksamkeit zukommt. Inwieweit sich eine vielerorts abspielende Antigen-Antikörper-Reaktion morphologisch manifestiert, ist wahrscheinlich eine Frage der Quantität. Die besondere Disposition der Nieren zum Manifestwerden solcher allergischer Reaktionen dürfte sich im wesentlichen aus ihrer Funktion als Ausscheidungsorgan ergeben, d.h. aus der damit verbundenen großen aktiven Oberfläche der glomerulären Gefäßschlingen.

Weitere Aufschlüsse über das Wesen der Masugi-Nephritis brachten vor allem auch die Experimente von Kay (1940 - 1942). Er hatte, wie auch schon Masugi beobachtet, daß bei der Anordnung Ente/Kaninchen die Glomerulonephritis erst nach 7 Tagen einsetzt. Er kam in seinen Arbeiten, in denen er das Reticulo-Endotheliale System der Empfängertiere mit Röntgenstrahlen blockierte, zu dem Ergebnis, daß die Masugi-Nephritis bei Kaninchen, die nephrotoxisches Serum aus Enten erhielten, in zwei Phasen abläuft. In der ersten kommt es nur zu einer Bindung der Anti-Kaninchnieren-Antikörper in der Niere ohne morphologisch sichtbare Veränderungen. Erst die in der 2. Phase im Reticulo-Endothelialen System des Kaninchens gebildeten Anti-Entenserum-Antikörper führen durch ihre Fixierung an dem jetzt in der Niere befindlichen Antigen-Antikörper-Komplex zu klinisch und histologisch faßbaren Veränderungen. (Abb. 1).

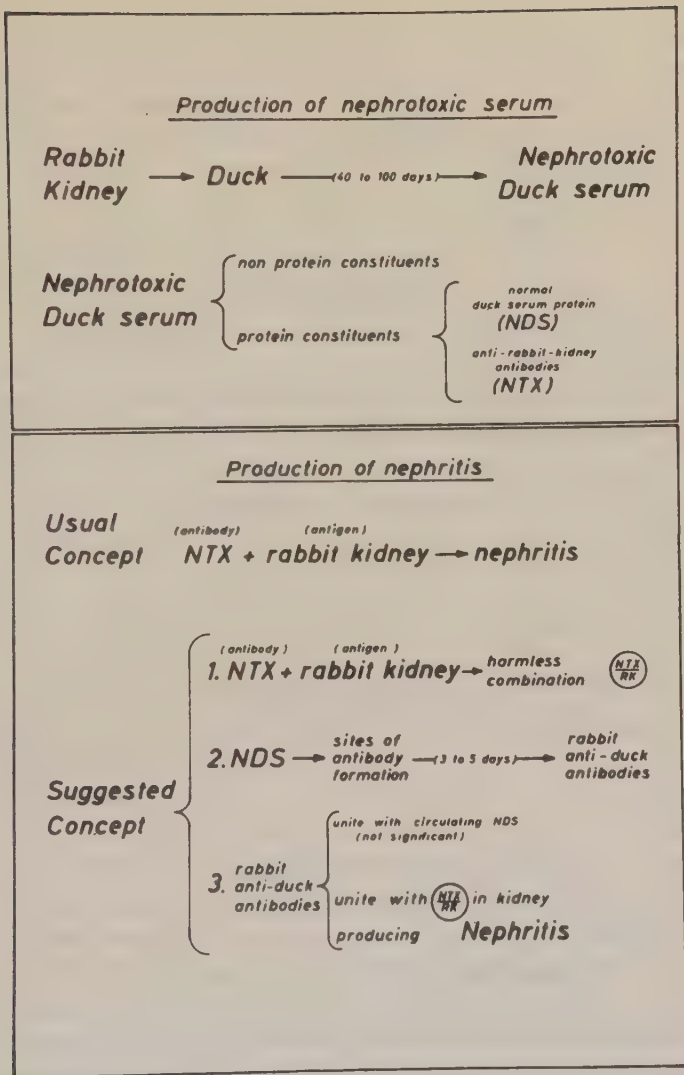


Abb. 1 : Mechanismus der experimentellen Glomerulonephritis des Kaninchens, das nephrotoxisches Entenserum erhalten hat.
(Aus: C.F. Kay: The Mechanism by which Experimental Nephritis is produced in Rabbits injected with Nephrotoxic Duck Serum, J. Exper. Med. 72, 559; 1940)

Dagegen scheint bei der Anordnung Kaninchen/Ratte, in der Zeichen einer Glomerulonephritis bereits nach 24 Stunden auftreten, schon die erste Phase, d.h. die Reaktion zwischen dem heterologen Antikörper und dem Antigen Niere zu genügen, um eine Glomerulonephritis entstehen zu lassen.

Masugi war der erste, der der Theorie der allergischen Entstehungsweise der menschlichen diffusen Glomerulonephritis tierexperimentell eine wesentliche Stütze gab. Jedoch lassen die Experimente Masugis und der oben zitierten Forscher in Bezug auf die Pathogenese der menschlichen Glomerulonephritis, mit der die Masugi-Nephritis klinisch und histologisch übereinstimmt, nur den Analogieschluß zu, daß es sich bei der menschlichen Glomerulonephritis möglicherweise um eine allergische Reaktion handelt. Die Frage nach dem für die Chronizität und Progredienz verantwortlichen Faktor kann durch diese Arbeiten noch nicht beantwortet werden.

Zur Erforschung der Übertragung der Glomerulonephritis von einer kranken auf eine gesunde Niere bzw. von einem kranken auf ein gesundes Tier führten Pfeiffer und seine Mitarbeiter (1954 - 1962) Parabioseexperimente durch. Es gelang ihnen in dieser Versuchsanordnung, bei der 2 Ratten über eine breite, sich allmählich kapillarisierende und einen kontinuierlichen Blutaustausch gewährende Muskelfläche miteinander verbunden werden, eine Glomerulonephritis von kranken auf gesunde Partnertiere zu übertragen (Pfeiffer, Schöffling, Sandritter, Schröder, Steigerwald und Wolf, 1954). Daß es sich, wie einige Forscher vermuteten (Ranzi u. Ehrlich, 1909; Hall u. Hall, 1951) dabei um eine unspezifische Parabiosevergiftung infolge genetischer Diskrepanz der Partnertiere handelt, dürfte mit dem Gelingen der Übertragung der Glomerulonephritis bei Tieren aus langjähriger Bruder-Schwester-Inzucht widerlegt sein (Pfeiffer, Sandritter, Schöffling, Treser, Kraus, Menk und Herrmann, 1960).

Die Möglichkeit, daß die Übertragung der Glomerulonephritis durch ein Hinüberwandern der beim Eintritt des Funktionierens der Parabiosebrücke noch im Blut des primär kranken Tieres kreisenden heterologen Antikörper in den gesunden Partner zustande kommt, wurde durch immunoelektrophoretische Untersuchungen ausgeschlossen (Ditschuneit, Ohebschalon und Pfeiffer, 1961).

1960 schließlich glückte die Übertragung chronischer seit 28 bis 72 Tagen bestehender Glomerulonephritiden (Sandritter, Kraus, Treser, Menk, Herrmann, Schöffling und Pfeiffer). Die Vermutung, für die Übertragung der Glomerulonephritis von einem kranken auf ein gesundes Tier sei ein Faktor verantwortlich, der mit dem die primäre Glomerulonephritis auslösenden nicht identisch sei, wurde zur Gewißheit, nachdem in sekundär erkrankten Parabiosepartnern der die Glomerulonephritis des primär erkrankten Tieres auslösende, mit Isothiocyanat markierte heterologe Antikörper fluoreszenzoptisch nicht nachgewiesen werden konnte (Pfeiffer, Ditschuneit, Otto, Menk, Sandritter und Schulenburg, 1959; Pfeiffer, Ditschuneit, Federlin, Mosler, Ohebschalon und Sandritter, 1960; Mosler, 1961 und Pfeiffer, 1962).

Natur und Lokalisation dieses Faktors wurden von unserer Arbeitsgruppe in weiteren Arbeiten untersucht. Hypothetisch wurde früher für die Übertragung der Glomerulonephritis, die nachweislich nicht durch heterologe Antikörper erfolgt, ein Autoantikörper verantwortlich gemacht. Die Annahme, dieser Autoantikörper sei ein humoraler, der gamma-Globulinfraktion des Serums angehörender Bestandteil, scheint falsch zu sein. Sowohl im primär kranken als auch im primär gesunden Partner des Parabiosepaares ließen sich autologe gamma-Globuline fluoreszenzoptisch nachweisen und zwar im primär gesunden Tier in wesentlich schwächerer und unregelmäßigerer Form. Auch nach Injektion einfachen Fremdserums wurden ähnliche Beobachtungen gemacht (Müller-Ruchholtz, Kraus, Federlin, Klein und Pfeiffer, 1962). Vor allem jedoch gab das Mißlingen der Übertragung der Glomerulonephritis durch

langdauernde Infusion des Serums nephritiskranker Tiere auf gesunde (Müller-Ruchholtz, Federlin, Schneider, Schmitt, Rahlwes, Ostner und Pfeiffer, 1962) den folgenden Versuchen eine neue Richtung.

Unsere Arbeitsgruppe wandte sich nun, da Serumbestandteile für den Übertragungsvorgang nicht verantwortlich sein konnten, den zellulären Bestandteilen des Blutes als möglichen Überträgern zu.

An welche Zellart diese Autoantikörpergebunden waren, galt es zunächst zu ermitteln. Schöffling, Federlin, Linnenkohl, Quinodoz und Pfeiffer (1962) interessierten sich zuerst für die Lymphocyten. Es gelang Müller-Ruchholtz, Federlin, Schneider, Schmitt, Rahlwes, Ostner und Pfeiffer, solche Zellen aus kranken Ratten zu gewinnen und durch Dauerinfusion auf gesunde Tiere zu übertragen. Bei 5 von 31 so behandelten Tieren trat eine Glomerulonephritis auf (1962).

Diesen erfolgreichen Übertragungsversuchen stehen Argumente einiger Autoren entgegen, die sich auf das Ergebnis eines einzigen Versuchs stützen, nämlich auf der Möglichkeit der Erzeugung einer einseitigen Glomerulonephritis beim Kaninchen, die sich, auch wenn sie einen chronischen Verlauf nimmt, nicht auf die gesunde Seite überträgt (Sarre und Wirtz, 1939 und in späteren Veröffentlichungen).

Die Autoren arbeiteten mit folgender Versuchsanordnung: Man schaltete bei Kaninchen die linke Niere durch Abklemmung 15 - 25 Minuten aus dem Kreislauf aus und injizierte am Anfang der Abklemmzeit eine bestimmte Menge eines aus Enten nach den Angaben Masugis gewonnenen Serums, das nephrotoxische Eigenschaft besaß, intravenös. Die Tiere ließ man 8 - 21 Tage überleben und fand in der Niere, die während der Operation frei war, also der rechten, eine Glomerulonephritis, in der abgeklemmten linken Niere dagegen keine oder nur weit schwächere krankhafte Veränderungen. Diese Ergebnisse wurden von Spühler, Zollinger und Enderlin (1951) bestätigt. -

Sarre und Wirtz folgerten damals:

"Aus diesen Versuchen scheint uns hervorzugehen, daß das mit dem Serum zugeführte organspezifische Nephrotoxin sehr rasch in der Niere fixiert wird. Nur so ist es zu verstehen, daß die vorübergehend aus dem Kreislauf ausgeschaltete Niere nicht erkrankt."

Neben diesen, den Ergebnissen der Parabioseexperimente und Infusionsversuchen anscheinend widersprechenden Resultaten, führen die Autoren noch, die genetische Identität der Pfeifferschen Versuchstiere anzweifelnd, den Einwand ins Felde, daß Versuche, die Aufschlüsse über das Wesen von Autoantikörpern und Autoaggressionsmechanismen geben könnten, nur an ein und demselben Individuum vorgenommen werden dürften.

Wir versuchten daher, die Experimente von Sarre und Wirtz zu reproduzieren und die Ergebnisse den Resultaten aus den besprochenen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe gegenüberzustellen.

Über das Bestehen einer Glomerulonephritis sollten uns klinische und histologische Untersuchungen Aufschluß geben, die Anwesenheit oder das Fehlen heterologer Antikörper sollte mit der Fluoreszenzmikroskopie aufgeklärt werden.

III. METHODIK

1. Erzeugung des nephrotoxischen Serums

a) Aufbereitung des Antigens:

Wir legten an narkotisierten Kaninchen die Nieren frei und präparierten den Gefäßstiel. Durch einen in die Arterie eingeführten Plastikkatheter durchspülten wir das Organ solange mit physiologischer NaCl-Lösung, bis die aus der eröffneten Vene strömende Flüssigkeit vollkommen klar erschien. Nach Entfernung der Nierenkapsel, des Nierenbeckens und der Kelche zerkleinerten wir die blutfreien Nieren im Homogenisator. Nach mehrmaligem Waschen des Nierenbreies (Mischen mit physiologischer NaCl-Lösung und Abzentrifugieren) erhielten wir einen weißlichen Rückstand, aus dem wir durch Mischen mit physiologischer NaCl-Lösung eine 20%ige Aufschwemmung herstellten.

b) Sensibilisieren der Enten:

Unsere Pekingenten wuchsen unter idealen Bedingungen auf (Rasen, Wasserbecken, eiweißreiche Ernährung). Als sie 9 Wochen alt waren, begannen wir mit der Sensibilisierung: In Abständen von 5 Tagen injizierten wir den Tieren je 5 ml der 20%igen Kaninchennierenaufschwemmung intraperitoneal. 2 der 10 Tiere blieben als Kontrolltiere unbehandelt. Nachdem jedes der 8 zu sensibilisierenden Tiere 25 Injektionen und damit 25 g Kaninchenniere bekommen hatte, entbluteten wir sie einschließlich der Kontrolltiere durch Herzpunktion und gewannen von einer Ente 90 bis 150 ml Blut bzw. 40 bis 70 ml Serum. Zur Prüfung der "nephrotoxischen Wirksamkeit" injizierten wir 8 Kaninchen je 5 ml Serum der 8 sensibilisierten Enten und 2 Kaninchen je 5 ml der Kontrollseren mit dem Erfolg, daß bei jedem der 8 Kaninchen, die Serum der sensibilisierten Enten erhalten hatten, sowohl klinisch als auch histologisch

eine diffuse, hämorrhagische Glomerulonephritis mittleren bis schweren Grades auftrat, während die beiden Kaninchen, die von dem Serum der Kontrollenten bekommen hatten, gesund blieben.

Wir mischten die nephrotoxischen Seren und die Kontrollseren und verwahrten sie in kleinen Portionen in der Tiefkühltruhe bei minus 20 Grad C.

2. Die Methodik der Abklemmversuche

Wir operierten die Kaninchen in Nembutalnarkose (4 mg / 100 g Körpergewicht), nachdem wir vorher die linke Flanke etwa handflächengroß rasiert und mit Jod desinfiziert hatten, unter sterilen Kautelen.

Schnittführung: 8 bis 10 cm langer Hautschnitt, etwa 3 Qf. seitlich und parallel der Wirbelsäule verlaufend und unterhalb des Rippenbogens beginnend. Durch einen Muskelschnitt in gleicher Richtung längs des Errector trunci eröffneten wir das Nierenlager und mobilisierten die Niere durch Präparation ihres Stieles. Eine weiche Klemme wurde um Arterie und Vene gelegt, aber erst geschlossen, nachdem die Kanüle der mit Anti-Kaninchennierenserum gefüllten Spritze in der Ohrvene des Kaninchens lag. Nach Schließen der Gefäßklemme injizierten wir die vorgesehene Menge Serum. Je nach Versuchsplan blieb die Gefäßklemme kürzere oder längere Zeit - maximal bis zu einer Stunde - geschlossen. Nach Öffnen der Klemme reponierten wir die Niere, die bald nach Wiedereinsetzen der Blutzirkulation ihre normale Farbe annahm. Die Muskelfascie nähten wir mit Catgut, die Hautwunde verschlossen wir mit Michelklammern. Bei allen operierten Tieren kam es zur Heilung per primam.

3. Herstellung der Nierenschnitte

Nach bestimmten Überlebenszeiten legten wir am narkotisierten Kaninchen die Nieren transperitoneal frei. Da wir für unsere fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen blutfreies Nierengewebe, für die histologischen Untersuchungen jedoch Nierengewebe mit natürlicher Blutfüllung benötigten, mußten wir die Nieren z.T. durchspült, z.T. mit der eben vorhandenen Blutfüllung gewinnen. Wir durchspülten daher die Nieren erst, nachdem wir zuvor ein keilförmiges Stück normal durchblutetes Nierengewebe mit dem Skalpell aus der Niere geschnitten hatten.

Die entstandenen Schnittflächen wurden durch Fingerdruck aufeinandergepreßt, um der Durchspülungsflüssigkeit (physiologische NaCl-Lösung) den Weg des geringeren Widerstandes durch die an der Schnittfläche durchtrennten Gefäße zu versperren und so eine einwandfreie Entblutung des Organs zu erreichen.

Während wir das Stück Nierengewebe für die histologische Untersuchung in Formalin aufbewahrten, froren wir das für die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung vorgesehene entblutete Stück in CO₂-Schnee-Acetongemisch rasch ein und konservierten es in der Tiefkühltruhe bei minus 20 Grad C.

Für die histologische Untersuchung fertigten wir Haematoxilin-Eosin-Schnitte oder nach Bedarf auch Elastica van Gieson-Schnitte an.

Für die Fluoreszenzmikroskopie waren Gefrierschnitte notwendig:

Wir schnitten an einem offenen Mikrotom, an dem Messer und Tisch getrennt gekühlt werden mußten. Für die Kühlung des Messers benutzten wir mit Trockeneis gefüllte Objektträgerkästchen, die wir so auf das Messer montierten, daß die Trockeneiswürfelchen direkt die Messerfläche berührten. Den Trägertisch kühlten wir mit einem CO₂-Gebläse.

Die Nierengewebsstückchen selbst wurden, eingebettet in einem Block aus 7,5 %iger Difcogelatine, auf dem Gefrier-tisch mittels eines mit Wasser getränkten Leinenläppchens aufgefroren. Mit dem Schneiden darf erst dann begonnen werden, wenn der Gelatineblock von der vom Gefriertisch aufsteigenden Kälte ganz durchdrungen ist und eine feste Konsistenz angenommen hat. Jedoch darf dieser auch wieder nicht derart fest eingefroren sein, daß beim Schneiden das Messer absplittert. Er hat optimale Festigkeit, wenn beim Befühlen mit dem Finger seine Oberfläche zu glänzen beginnt.

Die Schnitte fallen nun so, daß sie an der Schneide des Messers herunterhängen und mit Objektträgern, deren Oberfläche mit einer Mischung aus 1%iger Difcogelatine und 4%iger Formalinlösung bestrichen und dadurch besonders haftfähig geworden ist, aufgefangen werden können.

"Färbung" der Gefrierschnitte:

Wir verwendeten zur Markierung der Entenglobuline, d.h. des "nephrotoxischen" Serums, mit Fluorescein markierte Schaf-Antienten-Antikörper.

1. Die noch ungefärbten Schnitte müssen zum Trocknen 30 bis 60 Minuten bei Zimmertemperatur lagern. Es empfiehlt sich, die Schnitte sofort, spätestens aber nach 24 Stunden zu verarbeiten.
2. Überschichten mit fluoresceinmarkiertem Schaf-Antienten-Antikörper.
3. Der überschichtete Schnitt wird in eine feuchte Kammer gebracht und hier 30 Minuten bei 37 Grad C der Einwirkung des "Farbstoffes" überlassen. Wir benutzten als feuchte Kammer eine Petrischale, auf deren Boden ein mit Meyerpuffer getränktes Läppchen ausgebreitet war. Die Objektträger mit den Schnitten wurden auf zwei parallel liegende Glasstäbchen gelegt, damit sie nicht direkt mit der feuchten Unterlage in Berührung kamen.

4. Waschen in Meyerpuffer in 3- bis 4-fach gewechselter Lösung, in der letzten Lösung 10 Minuten lang.
5. Vorsichtiges Abtrocknen der Schnitte mit Filtrierpapier.
6. Zur Fixierung der Deckgläschen verwendeten wir ein Gemisch aus 1 Teil Glycerin und 9 Teilen Meyerpuffer.
7. Wurden die Schnitte längere Zeit aufbewahrt, versahen wir die Deckgläschen mit einer Wachsumrandung.

Danach wurden die Schnitte im ultravioletten Licht mikroskopisch beurteilt. Wir benutzten Paraffinimmersionsöl oder Glycerin.

Prinzipiell gleichartig erfolgte die Darstellung autologer Antikörper, d. h. der Antikörper, die sich im Kaninchen-organismus gegen die eigene kranke Niere bilden. Wir überschichteten in diesem Falle mit fluorescinmarkierten Schaf-Antikaninchen-Antikörpern.

Zur Einordnung der histologischen Nierenveränderungen wurden

4 Stärkegrade festgelegt:

- Stärke 0: Keine Veränderungen an Glomerula und tubulärem System (Abb. 2).
- Stärke 1: Geringe, vorwiegend herdförmige Schwellung der Glomerulumzellen, keine Zellvermehrung und Schlingenverklebung, Grundmembran unverändert.
- Stärke 2: Intrakapilläre Glomerulonephritis mit Verquellung der Grundmembran, geringer Vergrößerung und deutlicher Vermehrung der Endothelzellen, hyalintropfige Einschlüsse in den Hauptstückepithelien.
- Stärke 3: Ausgeprägte intrakapilläre Glomerulonephritis mit starker Schwellung und deutlicher Vermehrung der glomerulären Deck- und Endothelzellen. Verwachsungen der Schlingen; hyalintropfige Eiweißspeicherung in den Tubulusepithelien.

Für die Anwesenheit von Fluoreszenz setzten wir in den Tabellen ein Plus (+), bei ihrem Fehlen schrieben wir eine Null (0).

IV. ERGEBNISSE

Nachdem wir unser Entenserum auf seine nephrotoxische Wirksamkeit getestet und als aktiv gefunden hatten, sich ebenso die Kontrollseren, d.h. die Seren der Enten, die nicht mit Kaninchennierenemulsion sensibilisiert worden waren, als nicht nephritisauslösend erwiesen, begannen wir mit den Abklemmversuchen.

Wir legten an den Kaninchen die linke Niere in der angegebenen Weise frei und schalteten mit einer weichen Klemme arteriellen Zufluß und venösen Abfluß aus. Wir untersuchten nun zuerst, für welchen Zeitraum eine Niere diese doch sehr grobe Beeinträchtigung ihres Stoffwechsels ohne Schädigung des Gewebes verträgt. Dabei beobachteten wir unter der Operation, daß die Niere zwar umso cyanotischer wurde, je länger die Abklemmung währte, jedoch auch nach Abklemmungsdauer von einer Stunde wieder ihre normale Färbung annahm, sobald die Blutzirkulation einsetzte. Wir ließen die Tiere verschieden lange Zeit überleben und konnten weder während der Überlebenszeit klinische Symptome, noch nach Abtöten der Tiere histologische Veränderungen einer Nierenschädigung allein durch Abklemmung, auch wenn diese eine Stunde gedauert hatte, feststellen. - Natürlich werden sich in den "elektronenmikroskopischen Bereichen" der Zellstrukturen Veränderungen abgespielt haben, wie sie bei jeder längere Zeit dauernden Hypoxie auftreten. Jedoch haben diese, das zeigte sich in Kontrolluntersuchungen, keine mit dem Lichtmikroskop erfaßbaren bleibenden Folgen.

Auch die Injektion verhältnismäßig großer Mengen Serums nicht sensibilisierter Enten hat, wie Kontrolluntersuchungen ergaben, keine gewebsschädigende Wirkung. Wir durften demnach glomerulonephritische Veränderungen allein als Effekt der Injektion nephrotoxischen Serums ansehen.

Unsere Untersuchungsserie umfaßt 48 Versuchstiere und 10 Kontrollen.

Wir nahmen die Einteilung in 5 Gruppen nach folgenden Gesichtspunkten vor:

- A) Veränderliche Überlebenszeit nach der Operation
(1 - 38 Tage), große Nephrotoxinmenge (0,5 - 1,0 ml Nephrotoxin / kg Körpergewicht), gleiche Abklemmzeit (30 Minuten).
- B) Gleiche Überlebenszeit (15 Tage), kleine Nephrotoxinmenge (0,025 ml / kg Körpergewicht), gleiche Abklemmzeit (30 Minuten).
- C) Gleiche Überlebenszeit (15 Tage), mittlere Nephrotoxinmenge (0,25 ml / kg Körpergewicht), Abklemmzeit von 60 Minuten.
- D) Wie C, jedoch lange Überlebenszeit (100 - 180 Tage).
- E) Kontrollen

Ergebnisse der Versuchsgruppe A:

Die Resultate sind in Tabelle 1 und 4 zusammengefaßt.

Bei einer Nephrotoxin-Gabe von 0,5 - 1,0 ml/kg Körpergewicht und einer Abklemmzeit von 30 Minuten gelang es uns nicht, bei 27 Tieren, die die Operation 1 bis 38 Tage überlebten, eine einseitige Glomerulonephritis zu erzeugen. Wir fanden bei allen Kaninchen eine durch histologische Untersuchung gesicherte doppelseitige Glomerulonephritis mittleren bis schweren Grades. Bei 12 der 27 Tiere waren die Nierenveränderungen auf beiden Seiten gleichschwer, bei 15 Tieren war die Glomerulonephritis auf der Seite der Abklemmung, also auf der linken, etwas schwächer ausgeprägt.

Einzelbeispiele:

1. Normales Glomerulum einer Kaninchenniere: Zarte Basalmembran, offene Schlingenlumina, normale Zahl und Größe der Zellkerne, weiter und freier Bowman'scher Kapselraum. (Abb. 2).
2. Kaninchenniere 6 Tage nach intravenöser Injektion des Enten-Antikaninchen-Serums: Vergrößerung des gesamten Schlingenapparates mit nur noch schmalem Bowman'schen Kapselraum, Verbreiterung der Basalmembran und des Mesoangium, Zunahme der Kernzahl und -Größe, deutliche Lumeneinengung: Stärke 2 (Abb. 3).
3. Kaninchenniere 12 Tage nach intravenöser Injektion des Enten-Antikaninchen-Serums: Fibrinoide Nekrose der peripheren Schlingenanteile, enge Verklebung der zentralen Schlingen mit Kernvermehrung; Zell- und Faservermehrung des parietalen Kapselblattes: Stärke 3 (Abb. 4).
4. Kaninchenniere 46 Tage nach intravenöser Injektion des Enten-Antikaninchen-Serums: Fibrös umgewandeltes Glomerulum mit nur wenigen offenen Schlingenlumina und deutlicher Verminderung der Kernzahl. Lymphoplasmazelluläre Infiltration in die Umgebung: Schwere chronische Glomerulonephritis (Abb. 5).

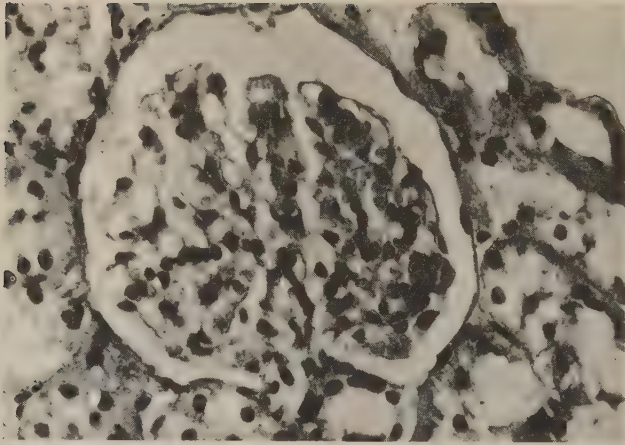


Abb. 2: Normales Glomerulum einer Kaninchenniere.
HE-Färbung, Vergr. 500-fach.

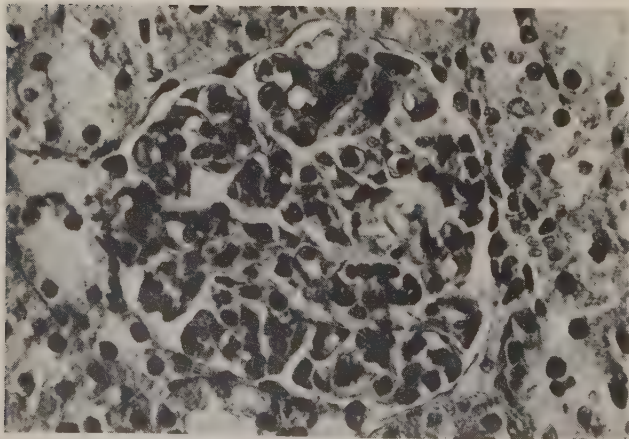


Abb. 3: Kaninchenniere 6 Tage nach intravenöser Injektion des
nephrotoxischen Serums.
HE-Färbung, Vergr. 500-fach.

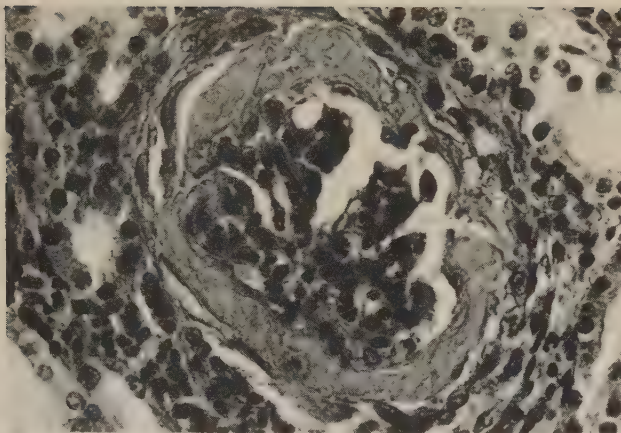


Abb. 4: Kaninchenniere 12 Tage nach intravenöser Injektion
des nephrotoxischen Serums.
HE-Färbung, Vergr. 500-fach.

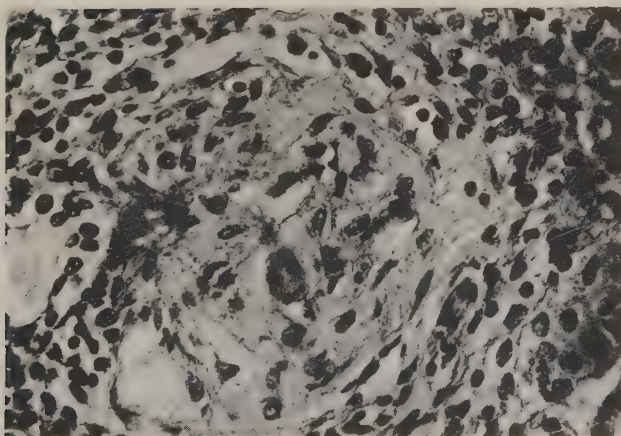


Abb. 5: Kaninchenniere 46 Tage nach intravenöser Injektion
des nephrotoxischen Serums.
HE-Färbung, Vergr. 500-fach.

In den fluoreszenzoptischen Untersuchungen fanden wir bei allen Tieren dieser Gruppe doppelseitige Fluoreszenz ohne nennenswerte Seitendifferenz.

In der Abbildung 6 erkennt man deutlich, daß die mit Fluoreszin markierten Anti-Entenglobulin-Antikörper vorzugsweise an den Basalmembranen der Glomerula gebunden sind. Aus dieser Beobachtung kann geschlossen werden, daß sich hier die Anti-Kaninchennieren-Antikörper gehäuft festgesetzt haben.

Zusammenfassend läßt sich zu Gruppe A feststellen: Es war nicht möglich, mit 0.5 - 1.0 ml Nephrotoxin / kg Körpergewicht, einer Abklemmzeit von 30 Minuten (bei Überlebenszeiten von 1 - 38 Tagen), eine einseitige Glomerulonephritis zu erzeugen. Das gegen Kaninchennieren gerichtete Nephrotoxin läßt sich fluoreszenzoptisch in beiden Nieren nachweisen.

E r g e b n i s s e d e r V e r s u c h s g r u p p e B :

Die Resultate sind in Tabelle 2 und 4 zusammengefaßt.

Nach der aus Versuchsgruppe A gewonnenen Erkenntnis, daß sich mit einer Nephrotoxinmenge von 0.5 - 1.0 ml / kg Körpergewicht keine einseitige Glomerulonephritis erzeugen läßt, verringerten wir die Nephrotoxinmenge auf 0.025 ml / kg Körpergewicht und ließen die Tiere 15 Tage überleben. Mit dieser geringen Nephrotoxinmenge konnten wir bei keinem Tier histologisch faßbare Nierenveränderungen hervorrufen. Es zeigte sich lediglich in der während des Versuchs freien rechten Niere eine Fluoreszenz; in der linken abgeklemmten Niere jedoch fanden wir fluoreszenzoptisch keine Anti-Kaninchennieren-Antikörper.

Offenbar waren sie in dieser Versuchsserie nicht so hoch dosiert, daß sie nicht in der rechten Niere hätten fixiert werden können. Sie waren aber auch in so geringer Konzentration vorhanden, daß sie eine Glomerulonephritis nicht mehr hervorrufen konnten.

Ergebnisse der Versuchsgruppen C u. D:

Wir erhöhten in der 3. Versuchsreihe, den Gruppen C und D, die Nephrotoxinmenge auf 0.25 ml / kg Körpergewicht und verlängerten die Abklemmzeit auf 60 Minuten.

8 der 18 Tiere töteten wir nach 15 Tagen (Gruppe C), die übrigen überlebten die Operation 100 bis 180 Tage (Gruppe D). Die Ergebnisse dieser Serie sind in Tabelle 3 und 4 zusammengefaßt.

Bei 5 der 8 Tiere der Gruppe C mit einer Überlebenszeit von 15 Tagen kam es auf Grund der histologischen Untersuchungen jetzt zu einer einseitigen Glomerulonephritis in der nicht abgeklebten Niere, während das ausgeschaltete Organ keine lichtmikroskopisch faßbaren Veränderungen aufwies. Bei einem Tier kam es zu einer doppelseitigen Nephritis, während die beiden letzten Tiere eine doppelseitige, leichte Glomerulonephrose (Stärke 1 unserer Einteilung) aufwiesen. Im Gegensatz zu diesem Resultat erbrachte die fluoreszenzoptische Untersuchung einen doppelseitigen Befall bei 4 der 8 Versuchstiere, unter denen 2 Tiere sind, die sicher eine nur einseitige Nephritis hatten. 4 Tiere wiesen nur eine einseitige Fluoreszenz auf.

Wir hatten uns also mit 0.25 ml Nephrotoxin / kg Körpergewicht und einer Abklemmzeit von 60 Minuten den für die Erzeugung einer primär einseitigen Glomerulonephritis optimalen Versuchsbedingungen genähert.

In Gruppe D ließen wir die 10 Tiere, denen wir je 0.25 ml Nephrotoxin / kg Körpergewicht injiziert hatten, während die linke Niere 60 Minuten aus dem Kreislauf ausgeschaltet war, 100 bis 180 Tage überleben.

Die Glomerulonephritis, die immer chronischen Charakter hatte, war bei 5 der 10 Tiere einseitig, d.h. auf die rechte Niere beschränkt, während bei den 5 übrigen Tieren histologisch keine Nierenveränderungen erfaßt werden konnten.

Fluoreszenzoptisch ließen sich in der abgeklemmten linken Niere keine heterologen Antikörper nachweisen, während bei 6 Tieren in der rechten Niere eine Fluoreszenz der Glomerula auf fixierte Anti-Kaninchennieren-Antikörper der Ente hinwies.

Jedoch erhielten wir bis auf eine Ausnahme doppelseitige Fluoreszenz, wenn wir auf die Nierenschnitte Schaf-Antikaninchenglobulin-Antikörper gaben. Bei dem 10. Tier war die "autologe" Fluoreszenz nur einseitig.

Wir schließen aus dieser Beobachtung, daß es zu einem Wechsel der Fluoreszenz heterologer Antikörper zur Fluoreszenz autologer Globuline - denn nur mit solchen können ja die Schaf-Antikaninchenglobulin-Antikörper reagieren - durch Abdeckung der heterologen Antikörper mit autologen Antikörpern des Kaninchens gekommen ist.

Entscheidend wichtig für diesen Vorgang ist die lange Überlebenszeit, während der die "heterologe Fluoreszenz" geschwunden ist, und die "autologe Fluoreszenz" an Intensität zugenommen hat.

Als Beispiel zum fluoreszenzoptischen Nachweis des heterologen Antikörpers in einer während der intravenösen Injektion des nephrotoxischen Serums offenen (rechten) Niere soll Abbildung 6 dienen.

K o n t r o l l e n

Wir nahmen Kontrollversuche aus folgenden Gründen vor:

1. Um zu klären, ob die Abklemmung des Gefäßstieles der Niere, auch die bis zu 60 Minuten dauernde, und die damit verbundene Anoxie im Nierengewebe bleibende, mit dem Lichtmikroskop erfaßbare Veränderungen hervorruft.
2. Um zu beweisen, daß die Injektion von Serum aus nicht sensibilisierten Enten keine oder nur schnell sich zurückbildende Gewebsveränderungen in der Niere nach sich hat.

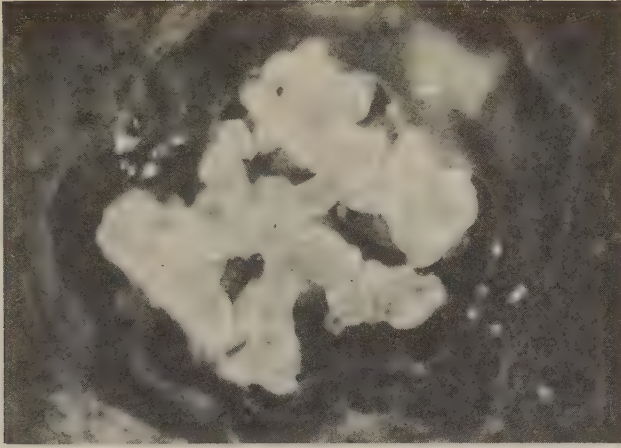


Abb. 6: Kaninchenniere 8 Tage nach intravenöser Injektion des Enten-Antikaninchen-Serums:
Fluoreszenzoptischer Nachweis des heterologen Antikörpers mit Hilfe eines mit Fluorescein-Isothiocyanat markierten Schaf-Anti-Enten-Globulins. Verdichtung der Fluoreszenz an der Basalmembran. Nativgefrierschnitt, Vergr. 500-fach.

3. Um zu erkennen, ob nach Injektion von Serum aus nicht sensibilisierten Enten eine Fluoreszenz auftritt, wenn man Nierenschnitte der so behandelten Kaninchen mit fluoresceinmarkierten Schaf-Antienten-Antikörpern überschichtet. In diesen Kontrollen sollte gezeigt werden, daß Serum von Enten, die keine Antikörper gegen Kaninchenniere ausgebildet hatten, sich nicht in den Nieren des Empfängertieres (Kaninchen) niederschlägt.

Ergebnisse der Kontrollversuche:

1. Wir klemmten bei je 2 Kaninchen den Gefäßstiel der linken Niere für 10, 30 und 60 Minuten ab und verhinderten damit für die betreffenden Zeiten die Organdurchblutung. Je 1 Tier der 3 Zweiergruppen töteten wir nach 3, die übrigen nach 10 Tagen. Wir konnten bei keinem der 6 Tiere histologische Nierenveränderungen feststellen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

2. Wir injizierten 4 Kaninchen intravenös je 1, 2, 3 und 6 ml Serum nicht sensibilisierter Enten. Die Tiere, die 3 und 6 ml erhalten hatten, zeigten in den ersten 24 Stunden eine geringe Proteinurie, die beiden anderen nicht. Wir töteten die Tiere nach 2 Tagen und fanden lediglich bei dem Kaninchen, dem 6 ml Serum injiziert worden waren, histologische Gewebsveränderungen der Glomerula, die nach unserer Einordnung zwischen 0 und 1 lagen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengefaßt.
3. Die Schnitte der 4 Tiere, die Serum nicht sensibilisierter Enten bekommen hatten, überschichteten wir mit Schaf-Antienten-Antikörper. Es zeigte sich keine Fluoreszenz. Die Ergebnisse können ebenfalls aus Tabelle 6 ersehen werden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß

1. die Abklemmung des Nierengefäßstieles bis zu 60 Minuten keine lichtmikroskopisch faßbaren irreversiblen Veränderungen hervorruft;
2. die Injektion von Serum nicht sensibilisierter Enten nur in relativ großer Menge (6ml) ganz dezent histologische Veränderungen bewirkt. Diese haben jedoch nicht nur wegen ihrer Geringfügigkeit für unsere Experimente keine Bedeutung, sondern auch deshalb, weil unsere Injektionsmengen nephrotoxischen Serums weit unter einer Dosis von 6 ml lagen (maximal 1 ml/kg Körpergewicht=Gesamtdosis von 2-3 ml/Tier).
3. Serum nicht sensibilisierter Enten haftet nicht in Kaninchennieren.

V. DISKUSSION

1935 erkannten Masugi und Mitarbeiter, daß ihre Meinung, das Nephrotoxin sei spezifisch gegen das Organ Niere gerichtet, bzw. nur mit einem "Nephrotoxin" lasse sich eine Glomerulonephritis erzeugen, nicht den Tatsachen entsprach. Es war vielmehr auch möglich, mit einem aus sensibilisierten Enten gewonnenen Anti-Kaninchenherz-Serum Nierenläsionen beim Kaninchen zu setzen. Diese Erkenntnis wurde erweitert durch Beobachtungen Tsujis, der mit myotoxischem Serum ebenfalls eine Schädigung der Nieren erzielte. Eine Glomerulonephritis erzeugten 1946 Seegal und Loeb schließlich mit Anti-Placenta-Serum.

Pressman und Sherman (1951) fanden markiertes Anti-Nieren-Serum zwar gehäuft in der Niere aber auch in anderen Organen, vor allem in den Lungen, während sich markierte Anti-Lungen-Antikörper auch in den Glomerula nachweisen ließen.

Diesen Beobachtungen kommt eine große Bedeutung zu, da sie zeigen, daß die zur Sensibilisierung verwendeten Organe nicht spezifisch sind bzw. einen gemeinsamen Bestandteil haben müssen, gegen den sich die entstehenden Antikörper richten. Mit ihm reagieren sie im Empfängertier überall da, wo er lokalisiert ist. In unseren Untersuchungen konnten wir fluoreszenzoptisch eine Häufung heterologer Antikörper an den Basalmembranen der Glomerula erkennen.

Das Nephrotoxin enthält neben den "Nieren-Antikörpern" auch noch unspezifische Bestandteile, die ebenfalls in den Kreislauf des Empfängertieres gelangen.

Wir wissen, daß das nephrotoxische Serum von Kaninchen bei Ratten im Verlauf weniger Stunden zu entzündlichen Nierenveränderungen führt (Masugi, 1934; Smadel, 1936; Kay, 1942; Heyman und Mitarbeiter, 1952; Pfeiffer, Schöffling, Bruch und Spielmann, 1954).

Das Nephrotoxin aus Enten ruft im Kaninchen jedoch erst nach 7 Tagen eine Glomerulonephritis hervor. Man spricht daher auch von der Sofort-Nephritis der Ratten und der verzögerten Nephritis des Kaninchens.

Eine erste Klärung der Pathogenese der experimentellen Nephritis der Ratte und des Kaninchens brachten die Experimente von Kay (1940 - 1942). Er nimmt an, daß es bei der Ratte gleich nach Injektion des nephrotoxischen Serums aus Kaninchen zu einer Entzündung am Ort der Antigen-Antikörper-Reaktion, also der Niere kommt, während bei Kaninchen, die Nephrotoxin von Enten erhielten, dieser Antigen-Antikörper-Komplex zunächst nicht krankmachend wirke. Er wird daher vom Autor als "harmless-complex" bezeichnet. Dieser "harmless-complex" müsse sich erst mit Gamma-Globulinen, die sich im Laufe von durchschnittlich 7 Tagen im Kaninchen-Organismus gegen das Fremdeiweiß bilden, verbinden, um nephritisauslösenden Charakter anzunehmen. Mit dem Beginn der Glomerulonephritis nach etwa einer Woche kommt es beim Kaninchen zu einem Abfall des Serumkomplements (Ogawa und Sato, 1938). Pfeiffer und Mitarbeiter (1954) fanden diesen Komplementsturz bei Ratten, denen Nephrotoxin aus Kaninchen injiziert worden war, bereits kurz post injektionem, für einen Zeitraum von 10 Stunden anhaltend.

Diese Ergebnisse geben der Kayschen Konzeption eine Stütze, da der Verbrauch von Komplement auf eine Antigen-Antikörper-Reaktion hinweist.

Kay hat bei Kaninchen die Bildung autologer Gamma-Globuline durch Röntgenbestrahlung oder Lost-Gaben "blockiert" und mit dieser Methode die Entstehung einer Glomerulonephritis verhindert. Gab er diesen zur Bildung autologer Gamma-Globuline unfähigen Tieren in der "kritischen Zeit" Serum von Kaninchen,

die gegen normales Entenserum sensibilisiert worden waren und keine Strahlen oder Lost erhalten hatten, so kam es zur Glomerulonephritis. Nach diesen Beobachtungen glaubte sich Kay zu dem Schluß berechtigt, daß der unspezifische Anteil des nephrotoxischen Entenserums die Bildung der zur Entstehung der Glomerulonephritis notwendigen autologen Gamma-Globuline induziere.

Seine Vorstellungen sind in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

Wir haben die Versuche zur Erzeugung einer einseitigen Glomerulonephritis nach den Angaben von Sarre und Wirtz (1939, 1942) durchgeführt. Dabei gingen wir zunächst von der Vorstellung aus, daß es nach den Ergebnissen von Sarre u. Wirtz möglich ist, eine anfangs einseitige Glomerulonephritis zu erzeugen, daß diese aber im Laufe einer längeren Überlebenszeit durch den aus unseren Übertragungsexperimenten erwiesenen Faktor auf die gesunde Niere übergreifen muß.

Unser aus Enten gewonnenes Nephrotoxin war jedoch so stark, daß wir in der Gruppe A mit einer Gabe von 0.5 - 1.0 ml Nephrotoxin / kg Körpergewicht bei 27 Tieren eine doppel-seitige Glomerulonephritis ohne wesentliche Seitenunterschiede mit einer heterologen Fluoreszenz in beiden Nieren erhielten (Tabelle 1 und 4).

Schon nach 1 - 6tägigen Überlebenszeiten traten bei den Tieren Nierenveränderungen auf.

Wir führten die Sensibilisierung der Enten ebenso wie Sarre und Wirtz nach der von Masugi angegebenen Methode durch. Es ist jedoch möglich, daß Unterschiede in der Haltung und Ernährung der Tiere sowie der Rasse den Grund für die unterschiedliche Wirksamkeit des nephrotoxischen Serums darstellen.

Die große Wirksamkeit unseres nephrotoxischen Serums ist auf einen hohen Gehalt heterologer Antikörper zurückzuführen, die während der Abklemmzeit nicht restlos von der "freien" rechten Niere gebunden werden konnten, so daß sie sich nach Öffnung der Gefäßklemme auch in der linken Niere niederschlugen.

Wir dürfen die geweblichen Frühveränderungen der Nieren, die schon vor dem 7. Tag post.inj. des Nephrotoxins zu beobachten sind, als unspezifisch, durch die Fremdeiweiß-eliminierung bedingt, ansehen. "Es sind dies Glomerulusveränderungen, welche unglücklicherweise von manchen Autoren als Nephritis angesprochen werden" (Spühler, Zollinger u. Enderlin, 1951), die aber in Wirklichkeit als Glomerulonephrose angesehen werden müssen.

In der Versuchsgruppe B injizierten wir 3 Tieren 0.025 ml Nephrotoxin / kg Körpergewicht. Wir konnten damit keine histologisch faßbaren Veränderungen der Nieren erzielen (Tabelle 2 und 4) und fanden nur in der freien Niere der Kaninchen Fluoreszenz, die die Anwesenheit heterologer Antikörper, deren Konzentration aber für die Auslösung einer entzündlichen Veränderung zu gering war, bewies.

Es ist demnach der Schluß berechtigt, daß es einer bestimmten Menge Antikörper bedarf, oder daß die Antikörper-Konzentration einen gewissen Schwellenwert überschreiten muß, um eine Glomerulonephritis zu erzeugen.

Das Problem war nun, Dosis und Abklemmzeit so einzurichten, daß in der "freien" rechten Niere dieser Schwellenwert überschritten, in der abgeklemmten Niere jedoch nicht erreicht wird.

Wir erhöhten daher die Nephrotoxin-Menge auf 0.25 ml/kg Körpergewicht und verlängerten die Abklemmzeit auf 60 Minuten. Unter diesen Bedingungen erzielten wir in den Versuchsgruppen C und D (Tabelle 3 und 4) bei 10 von 18 Tieren eine histologisch gesicherte Glomerulonephritis, die auf eine Seite beschränkt war. Die Versuchsgruppe C bestand aus 8 Tieren, die 15 Tage überlebten, während die Versuchsgruppe D 10 Tiere umfaßte, die 100 - 180 Tage am Leben bleiben und eine chronische Nephritis bekommen sollten. Von der "akuten" Gruppe C bekamen 5 Tiere einseitige, histologische Veränderungen, 1 Tier erkrankte doppelseitig und 2 Tiere blieben gesund. Die fluoreszenz-optischen Untersuchungen zeigten dagegen bei der Hälfte der Tiere doppelseitige und bei der anderen Hälfte einseitige "heterologe" Fluoreszenz. 5 der 10 Tiere der "chronischen" Gruppe D hatten einseitige histologische Veränderungen, während die 5 anderen Tiere keinerlei Nierenaaffektionen aufwiesen. Eine "heterologe" Fluoreszenz konnten wir hier nur 6 mal einseitig und niemals doppelseitig nachweisen, während 9 der 10 Tiere eine "autologe" Fluoreszenz auf beiden Seiten aufwiesen und nur einmal eine einseitige "autologe" Fluoreszenz feststellbar war.

Damit hatten wir unser Ziel, die einseitige Glomerulonephritis nach Sarre und Wirtz zu erzeugen, erreicht. Diese Glomerulonephritis hatte sich jedoch entgegen unseren Erwartungen bei der Gruppe D mit der langen Versuchsdauer nicht auf die gesunde Seite übertragen. Dieser nur auf den histologischen Beobachtungen basierende Befund steht zunächst im Gegensatz zu unseren Übertragungsexperimenten und den klinischen Resultaten bei der Nierentransplantation. Pfeiffer und Merrill (1962) hatten beobachtet, daß das Nierentransplantat vom gesunden Zwillingspartner auch die Zeichen der Nephritis bekam, wenn die kranken Nieren im nierenkranken Empfänger belassen wurden.

Die Glomerulonephritis manifestierte sich im Transplantat in subakuter Form, wenn die Glomerulonephritis des Empfängers chronischen Charakter hatte.

Sarre hat zu Unrecht die Schädigung der übertragenen Niere und die in einem Parabiosepartner entstehende Glomerulonephritis als Unverträglichkeitsreaktionen bezeichnet, da die Transplantation zwischen eineiigen Zwillingen durchgeführt worden war, und da die Parabiosetiere einem Stamm langjähriger Bruder-Schwester-Inzucht angehörten, deren genetische Identität durch Hauttransplantationen erwiesen war.

In keinem der beiden Beispiele kann daher die genetische Diskrepanz für die Nierenläsionen verantwortlich gemacht werden. Vielmehr muß sowohl für die Übertragbarkeit als auch für das Chronischwerden der Glomerulonephritis ein durch die kranke Niere entstehender Faktor mit aggressiven Eigenschaften angenommen werden. Auf Grund der negativen Ergebnisse, die Glomerulonephritis mittels zellfreien Serums kranker Tiere zu übertragen und auf Grund des gelungenen Experimentes, mit Hilfe von Lymphocyten erkrankter Tiere eine Glomerulonephritis in einem gesunden Partner zu erzeugen, glauben wir uns zu dem Schluß berechtigt, daß dieser Faktor zellgebunden sein muß.

Warum jedoch wird die einseitige Glomerulonephritis des Kaninchens nicht auf die gesunde Seite übertragen ?

Wahrscheinlich haben Sarre und Wirtz (1939 und 1942) sowie Rother und Sarre (1962) mit der Feststellung, in der abgeklemmten Niere seien zu wenig heterologe Antikörper vorhanden, um eine Glomerulonephritis entstehen zu lassen, teilweise Recht. Warum aber überträgt sich dann nicht die Erkrankung von dem chronisch lädierten Organ der Gegenseite mittels des nephritisauslösenden Faktors im weiteren Verlauf der Krankheit ?

Eine Antwort auf diese Frage geben uns die fluoreszenzoptischen Untersuchungen an den Versuchsgruppen C und D. Im Kurzversuch

der Gruppe C hatten wir gesehen, daß trotz nur einseitiger Erkrankung der Niederschlag der "heterologen" Fluoreszenz in beiden Seiten nachweisbar war. Der heterologe Enten-Anti-Kaninchen-Nieren-Antikörper war also trotz kleiner Injektionsmenge und stark verlängerter Abklemmungsdauer in der ausgeschalteten Niere fixiert worden. Im Dauer-versuch von 100 - 180 Tagen waren dagegen bei völlig gleicher Versuchsanordnung niemals mehr heterologe Antikörper in der abgeklemmten Niere nachzuweisen. Bei 9 der 10 Tiere bestand jedoch eine doppelseitige autologe Fluoreszenz, d.h. Bestandteile der Nieren reagierten mit einem fluoreszin - markierten Anti-Kaninchen-Globulin. Daraus können wir folgern, daß die fixierten Fremdproteine eine sich laufend verstärkende Bildung autologer Globuline hervorgerufen hatten, die, wie die Arbeiten von Mellors (1955), Seegal (1957) und Lange (1961) gezeigt haben, dann diese Fremdproteine auf der Basalmembran bedecken, überschichten und optisch zum Verschwinden bringen.

Diese Schicht autologer Gammaglobuline übt nun nach ihrer Fixation auf der Basalmembran eine Schutzfunktion aus und verhindert den Angriff des sekundär im kranken Organ entstehenden nephritisauslösenden Faktors und macht damit den eigentlichen Autoaggressionsmechanismus unmöglich.

Dieses Phänomen ist in der Nierenpathologie zwar bisher noch nicht beobachtet worden, findet aber in anderen immunologischen Reaktionen eindeutige Parallelen. Hier ist als erstes das sog. "enhancement" aus der Transplantationsimmunologie, 1956 von Kaliss beschrieben, zu nennen, das ebenfalls einen Antagonismus zwischen humoralen und zellulären Antikörpern bei Tumortransplantation postuliert. Kaliss versteht unter diesem Phänomen heute "das erfolgreiche Angehen oder die verlängerte Überlebenszeit eines allogenen Transplantates". Wird einem Empfänger 2 - 3 Tage nach einer

Transplantation abermals ein Gewebstück überpflanzt, so wird das Transplantat zerstört. Liegt aber zwischen beiden Transplantationen ein Zeitraum von 2 - 3 Wochen, schützen inzwischen aufgetretene humorale Antikörper das zweite Transplantat vor der Aggression und ermöglichen das immunologische "enhancement", d.h. das fortschreitende Wachstum des Tumors.

Ein gleichartiges "enhancement" allogener Hauttransplantate wurde eingehend von Brent (1959) und Mitarbeitern studiert. Von Gorer (1956) wurde die zu verschiedenen Zeiten wechselnde synergistische und antagonistische Reaktion zwischen humoralen und zellulären Antikörpern bei der Homotransplantation beschrieben.

Eine für das Verständnis unserer Beobachtungen wichtige Untersuchung wurde von Paterson, Harwin und Didakow (1961) durchgeführt. In einer ersten Versuchsserie hatten die Autoren Ratten mit Rückenmarksbrei und Freundschem Adjuvans sensibilisiert und damit eine Encephalomyelitis erzeugt. Die Tiere, die diese Krankheit überlebten und sich im Anschluß an das akute Geschehen wieder erholten, entwickelten eine Resistenz. Bei der abermaligen Sensibilisierung nach 4 - 6 Wochen, erkrankte nur eine von 31 Ratten, während von 18 Erstbehandelten zu diesem Zeitpunkt 14 eine Erkrankung bekamen. In einer zweiten Serie behandelten sie 15 Tiere während der Sensibilisierung mit Rückenmark und Freundschem Adjuvans gleichzeitig mit dem Serum von Tieren, die 3 Wochen zuvor eine Encephalomyelitis durchgemacht hatten. Sie konnten auf diese Weise 14 der 15 Tiere vor einer allergischen Gehirn- und Rückenmarkerkrankung schützen, während wiederum 12 von 14 Kontrollen, die das Serum gesunder Ratten erhalten hatten, erkrankten.

Diese Experimente von Paterson und Mitarbeitern zeigen, daß ein Serumfaktor für die Entwicklung der Encephalomyelitis-Resistenz verantwortlich gemacht werden muß.

Alle Untersuchungen stimmen darin überein, daß Serumantikörper aus den Gammaglobulinen das jeweils betroffene Gewebe vor zellulären pathogenen Antikörpern schützen und damit die Krankheit verhindern.

Unsere Beobachtungen bei den fluoreszenzoptischen Untersuchungen der Nieren und die vorliegenden soeben besprochenen Ergebnisse aus der Immunologie berechtigen uns, abschließend festzustellen:

Die Entstehung einer einseitigen Nephritis durch Abklemmung des Gefäßstieles während und nach der Nephrotoxininjektion ist wahrscheinlich die Folge der Schutzfunktion, die die autologen Gammaglobuline, d.h. die Serumantikörper, gegenüber dem nephritisauslösenden Faktor, d.h. den zellständigen pathogenen Antikörpern ausüben. Das Phänomen der "einseitigen Nephritis" findet damit eine Erklärung und stellt keinen Einwand mehr gegen die Übertragungsexperimente von Pfeiffer und Mitarbeitern dar.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In einem der Arbeit vorangestellten geschichtlichen Überblick finden die Experimente Masugis, Sarres und Wirtz' sowie von Pfeiffer und Mitarbeitern besondere Beachtung.-

Der Widerspruch zwischen der Interpretation der sogenannten einseitigen Glomerulonephritis beim Kaninchen (Sarre und Wirtz) und den Ergebnissen der Parabioseexperimente an der Ratte (Pfeiffer und Mitarbeiter) veranlaßte uns zur vorliegenden Arbeit.

Wir arbeiteten mit Serum von Enten, die nach der von Masugi angegebenen Weise mit Kaninchenniere sensibilisiert worden waren und führten die vorübergehende Abklemmung des Gefäßstieles der linken Niere nach der Methode von Sarre und Wirtz durch, wobei wir allerdings Abklemmzeit und Nephrotoxindosis variieren mußten, um eine einseitige Nephritis zu erhalten.

In der Versuchsgruppe A erkrankten alle 27 Kaninchen, denen, während die linke Niere für 30 Minuten aus dem Kreislauf ausgeschaltet war, 0,5 - 1 ml Enten-Antikaninchen-Serum / kg. Körpergewicht intravenös injiziert wurde, doppelseitig an Glomerulonephritis. In beiden Nieren dieser Tiere, die wir 1 bis 38 Tage überleben ließen, gelang durch fluoreszenzoptische Untersuchungen der Nachweis heterologer Antikörper.

Die Dosis von 0,025 ml Nephrotoxin / kg. Körpergewicht, die den 3 Kaninchen der Versuchsgruppe B (Überlebenszeit 15 Tage) ebenfalls bei einer Abklemmzeit der linken Niere für 30 Minuten injiziert wurde, führte bei keinem Tier zu histologischen Nierenveränderungen. Jedoch ließ sich Entenglobulin in der rechten Niere der 3 Kaninchen fluoreszenzoptisch darstellen.

Es gelang uns schließlich, mit der Nephrotoxindosis von 0,25 ml / kg. Körpergewicht und einer Abklemmzeit von 60 Minuten bei 10 von 18 Tieren der Versuchsgruppen C und D eine Glomerulonephritis

zu erzeugen, die auf die rechte Niere beschränkt blieb. Nur bei 2 dieser einseitig (in der rechten Niere) erkrankten 10 Tiere ließen sich fluoreszenzoptisch in der linken Niere noch heterologe Antikörper nachweisen, bei den übrigen 8 der nur rechtsseitig erkrankten Tiere nicht mehr. Dagegen gelang in beiden Nieren der 10 Kaninchen der Gruppe D, die 100 bis 180 Tage überlebten, der Nachweis autologer Antikörper sowohl bei den 5 Kaninchen dieser Gruppe, die zu den nur noch einseitig erkrankten gehören, wie auch bei 4 Tieren, die keinerlei krankhafte Veränderungen der Nieren aufwiesen. Nur 1 Kaninchen mit histologisch unveränderten Nieren zeigte lediglich rechtsseitig autologe Fluoreszenz.

Daraus ergibt sich der Schluß, daß autologe Gammaglobuline, die die heterologen Entenglobuline überschichten, eine Schutzfunktion in dem Sinne ausüben, daß sie die Manifestation einer chronischen Glomerulonephritis zu verhindern vermögen.

Wir werden in unserer Annahme bestärkt durch Ergebnisse der Immunforschung (Kaliss, Paterson, Harwin und Didakow) und glauben uns zu der Behauptung berechtigt, daß zwischen der tatsächlichen Möglichkeit, im Kaninchen eine einseitige Nephritis zu erzeugen einerseits und dem Gelingen, eine chronische Glomerulonephritis von einem erkrankten auf einen gesunden Parabiosepartner zu übertragen andererseits, kein Widerspruch besteht.

In Kontrollversuchen wurde gezeigt, daß weder die lange Abklemmzeit von 60 Minuten, noch die Injektion von 3 ml Fremdsérum (Serum von nicht sensibilisierten Enten) Nierenveränderungen hervorruft; weiterhin wurde durch fluoreszenzoptische Untersuchungen nachgewiesen, daß Globuline nicht sensibilisierter Enten nicht in der Niere fixiert werden.

Tabelle 1
(Versuchsgruppe A)

Histologische und fluoreszenzmikroskopische Resultate bei 27 Kaninchen nach Abklemmung der linken Niere für 30 Minuten und Injektionen von 0,5-1,0 ml/kg Enten-Antikaninchen-Serum sofort nach Kreislaufunterbrechung.

Tier Nr	Versuchs- dauer (Tage)	Histologische Veränderungen		Fluoresz. Darst. v. Entenglobulin	
					
1	1	1	1	+	+
2	2	2	2	+	+
3	3	2	2	+	+
4	4	2	2	+	+
5	5	2	2	+	+
6	6	2	2	+	+
7	7	3	3	+	+
8	8	3	3	+	+
9	9	1	2	+	+
10	10	2	3	+	+
11	10	2	3	+	+
12	10	3	3	+	+
13	10	2	3	+	+
14	10	3	3	+	+
15	10	3	3	+	+
16	10	2	3	+	+
17	10	1	2	+	+
18	10	3	3	+	+
19	13	2	3	+	+
20	15	2	3	+	+
21	15	2	3	+	+
22	15	2	3	+	+
23	20	2	3	+	+
24	20	2	3	+	+
26	22	2	3	+	+
26	27	1	2	+	+
27	30	1	2	+	+

Tabelle 2
(Versuchsgruppe B)

Histologische und fluoreszenzmikroskopische Resultate bei 3 Kaninchen nach Abklemmung der linken Niere für 30 Minuten und Injektion von 0,025 ml/kg Enten-Antikaninchen-Serum sofort nach Kreislaufunterbrechung.

Tier Nr.	Versuchs- dauer (Tage)	Histologische Veränderungen		Fluoresz. Darst. v. Entenglobulin	
					
28	15	0	0	0	+
29		0	0	0	+
30		0	0	0	+

Tabelle 3
(Versuchsgruppe C u. D)

Histologische und fluoreszenzmikroskopische Resultate bei 18 Kaninchen nach Abklemmung der linken Niere für 60 Minuten und Injektion von 0,25 ml/kg Enten-Antikaninchen-Serum sofort nach Kreislaufunterbrechung.

Tier Nr.	Versuchsdauer (Tage)	Histologische Veränderungen		Fluoresz. Darst. v. Entenglobulin		Fluoresz. Darst. v. Kan.-Globulin	
		⊕	⊖	⊕	⊖	⊕	⊖
31	15	2	3	+	+		
32		1	1	+	+		
33		1	1	0	+		
34		0	3	0	+		
35		0	3	0	+		
36		0	3	0	+		
37		0	3	+	+		
38		0	3	+	+		
39	100	0	3	0	0	+	+
40		0	3	0	0	+	+
41		0	2	0	+	+	+
42	120	0	2	0	+	+	+
43		0	2	0	0	+	+
44		0	0	0	+	+	+
45	180	0	0	0	+	+	+
46		0	0	0	+	+	+
47		0	0	0	+	0	+
48		0	0	0	0	+	+

Tabelle 4

**Zusammenfassung der Versuche zur Erzeugung
einer „einseitigen“ Nephritis beim Kaninchen.**

Tier- gruppe	Versuchs- dauer (Tage)	Nephrotoxin- menge (ml / kg)	Abklem- mungs- dauer (Min.)	Tier- zahl	Doppelseitige			Einseitige		
					Histolog. Veränder.	Fluoresz. Darst. x Enten- globulin	Fluoresz. Darst. x Kan.- Globulin	Histolog. Veränder.	Fluoresz. Darst. x Enten- globulin	Fluoresz. Darst. x Kan- Globulin
A	45	0,5 - 1,0	30	27	27	27		0	0	
B	15	0,025	30	3	0	0		0	3	
C	15	0,25	60	8	1	4		5	4	
D	100-100	0,25	60	10	0	0	9	5	6	1

Tabelle 5
(Kontrollen)

Histologische Resultate bei 6 Kaninchen, deren linke Niere durch Abklemmung des Gefäßstieles vorübergehend aus dem Kreislauf ausgeschaltet wurde.

<i>Tier Nr.</i>	<i>Abklemm-zeit (Min.)</i>	<i>Versuchs-dauer (Tage)</i>	<i>Histolog. Ver-änderungen</i>
1	10	3	0
2		10	0
3	30	3	0
4		10	0
5	60	3	0
6		10	0

Tabelle 6
(Kontrollen)

Histologische und fluoreszenzmikroskopische Ergebnisse bei 4 Kaninchen, denen Serum nicht sensibilisierter Enten injiziert worden war. Versuchsdauer: 2 Tage

<i>Tier Nr.</i>	<i>Serum - menge(ml)</i>	<i>Histolog. Veränder.</i>	<i>Fluoresz. Darst. von Enten - globulin</i>
1	1	0	0
2	2	0	0
3	3	0	0
4	6	0-1	0

VII. LITERATURVERZEICHNIS

- Baehr, G: Über experimentelle Glomerulonephritis, Beitr. path. Anat. 55 (1913)
- Bailey, C.H.: The production of amyloid disease and chronic nephritis in rabbits by repeated intravenous injections of living colon bacilli, J.Exp.Med., N.Y. 1916, XXIII, 773-790, 6 pl.
- Brent, L., J.B. Brown und P.B. Medawar: Symp. de l' Université de Liège: Biological Problems of Grafting 1959, S. 64
- Ditschuneit, H., R. Ohebschalon und E.F. Pfeiffer: Studien zur Übertragung der Masugi-Nephritis der Ratte. V. Die Kinetik der Elimination von Kaninchen-Anti-Ratten-Nierenglobulin, Kaninchen-gamma-Globulin, Human-Albumin und Human-gamma-Globulin bei der Ratte, Zschr.ges.exp.Med. 134, 148, 1961
- Escherich, T. und B. Schick: Der Scharlach, Nothnagels Handbuch, Wien und Leipzig 1912
- Fahr, Th.: Über chronische Nephritis und ihre Beziehungen zur Arteriosklerose, Virchows Arch. 195, 228 (1909)
- Fahr, Th.: Über maligne Nierensklerose (Kombinationsform), Zbl. Path. 21, 481 (1916)
- Fahr, Th.: Kurze Bemerkungen über die Frage der Nierensklerose, Med.Klin. 1918, 693
- Fahr, Th.: Nephrosklerose, Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie, Bd. VI/1, S. 368, 1925, Bd. VI/2, S. 808, 1934
- Fahr, Th.: Beitrag zur Frage des Morbus Brightii, Klin.Wschr. 1934, 609
- Friedemann, U. und H. Deicher: Weitere klinische und experimentelle Untersuchungen über den Scharlach. Die Pathogenese der Scharlach-Nephritis, Z. klin.Med. 108, 737 (1928)
- Gorer, P.A.: Some recent work on tumor immunity, Advances Cancer Res. 4:149 - 186 (1956)
- Hall, C.E. und O. Hall: Production and pathogenesis of parabiotic hypertension in the rat, Arch.Path. 51, 527 (1951)
- Hall, C.E. und O. Hall: Hypertensive disease produced by desoxycorticosteron-acetate in parabiotic rats, Arch.Path. 51, 249 (1951)

- Heymann, W. und
H.E. Lund: Lipemic nephrosis in rats, Science 108, 448 (1948)
- Heymann, W. und
H.E. Lund: The nephrotic syndrome in rats, Pediatrics 7, 691 (1951)
- Heymann W. und
H.E. Lund und
J.E. Mackel: The nephrotic syndrome in rats:
With special reference to the progression of the
glomerular lesion and to the use of
nephrotoxic sera obtained in ducks,
J.Laborat. Clin.Med. 39, 218 (1952)
- Heymann, W. und
O.E. Mackel: The early development of anatomic and blood
chemistry changes in the nephrotic syndrome
in rats, J. Laborat. Clin.Med. 39, 429 (1952)
- Hill, A.G.S.,
B. Cruickshank und
A. Crossland: A study of antigenic components of kidney tissue,
Brit. J. Exper. Path. 34, 27 (1953)
- Kaliss, N. und
B.F. Bryant: Factors determining homograft destruction and
immunological enhancement in mice receiving
successive tumor inocula, J.Nat. Cancer
Institute 20, 691 (1958)
- Kay, C.F.: Mechanism by which experimental nephritis is
produced in rabbits injected with nephrotoxic
duck serum, J. Exper. Med. 72, 559 (1940)
- Kay, C.F.: The mechanism of a form of glomerulonephritis:
Nephrotoxic nephritis in rabbits, Amer.J.Med.Sc.
204, 483 (1942)
- Kedler, E.: Über den Einfluß der temporären Ischämie auf das
Arthus-Phänomen, Beitr.pathol.Anat.,Bd. 122,
Heft 1 (1960)
- Klebs: Handbuch der pathologischen Anatomie, Berlin 1870
- Krakower, C.A. und
S.A. Greenspoon: Localization of the nephrotoxic antigen
within the isolated renal glomerulus,
Arch.Path., Chicago 51, 629 (1951)
- Kussynski, M.E.: Nephritisstudien, Virchows Arch. 227, 186 (1920)
- Lange, K.: Über den immunologischen Mechanismus der akuten
und chronischen Glomerulonephritis, Intern.
Nierensymposium Würzburg, 1961, S. 232
- Lange, K.,M. Wachstein
und St.No. Pherson: Immunological mechanism of
experimental glomerulonephritis in parabiotic rats,
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106, 13 (1961)

- Langhans, Th.: Über die Veränderungen der Glomeruli bei der Nephritis nebst einigen Bemerkungen über die Entstehung der Fibrinzylinder, Virchows Arch. 76, 85 (1879)
- Langhans, Th.: Über die entzündlichen Veränderungen der Glomeruli und die akute Nephritis, Virchows Arch. 99, 193 (1885)
- Langhans, Th.: Über die entzündlichen Veränderungen der Glomeruli, Virchows Arch. 112, 1 (1888)
- Lindemann, W.: Sur le mode d' action de certains poisons rénaux, Ann. Inst. Pasteur 14, 49 (1900)
- Long, E.R. und L.L. Finner: Experimental glomerulonephritis produced by intrarenal tuberculin-reactions, Amer. J. Path. 4, 571 (1928)
- Masugi, M.: Über die spezifische cytotoxische Wirkung des Anti-Nieren- und Leberserums sowie über die sog. umgekehrte Anaphylaxie, Transact. Jap. Path. Soc. 19, 132 (1929)
- Masugi, M. und Y. Tomizuka: Über die spezifische toxische Veränderung der Niere und Leber durch das spezifische Antiserum Nephrotoxin und Hepatotoxin. Zugleich ein Beitrag zur Pathogenese der Glomerulonephritis, Transact. Jap. Path. Soc. 21, 329 (1931)
- Masugi, M., Y. Sato, S. Murasawa und Y. Tomizuka: Über die experimentelle Glomerulonephritis durch das spezifische Antinierenserum, Transact. Jap. Path. Soc. 22, 614 (1932)
- Masugi, M.: Über das Wesen der spezifischen Veränderungen der Niere und der Leber durch das Nephrotoxin bzw. das Hepatotoxin. Zugleich ein Beitrag zur Pathogenese der Glomerulonephritis und der eklamptischen Lebererkrankung, Beitr. path. Anat. Jena 91, 82 (1933)
- Masugi, M.: Über die experimentelle Glomerulonephritis durch das spezifische Antinierenserum. Ein Beitrag zur Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis, Beitr. path. Anat. Jena 92, 429 (1933, 34)
- Masugi, M. u. Y. Sato: Über die allergische Gewebsreaktion der Niere. Zugleich ein experimenteller Beitrag zur Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis und der Periarteriitis nodosa, Virchows Arch. 293, 615 (1934)

- Masugi, M., Y. Sato
und S. Todo: Über die Veränderungen des Herzens durch das spezifische Antiherzserum. Experimentelle Untersuchungen über die allergischen Gewebsschäden des Herzens, Transact. Jap. Path. Soc. 25, 211 (1935)
- Masugi, M. u. T. Isibasi: Über allergische Vorgänge bei Allgemeininfektion vom Standpunkt der experimentellen Forschung. Zugleich ein Beitrag zur Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis und der Periarteriitis nodosa, Beitr. path. Anat. Jena 96 391 (1935, 36)
- Mellors, R.C.: J. Histochem. Cytochem. 3, 284 (1955)
- Merill, J.P.: Persönliche Mitteilung 1957
- Mosler, I.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an der im Parabioseversuch übertragenen experimentellen Glomerulonephritis der Ratte, Inaug.Diss. Frankfurt a.M. 1961
- Müller-Ruchholtz, W.,
K. Federlin, A. Schneider,
G. Schmitt, G. Rahlwes,
K.H. Ostner und
E.F. Pfeiffer: Übertragungsversuche zur Lokalisation eines nephritisauslösenden Faktors bei Ratten, Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 68, 53 (1962)
- Müller-Ruchholtz, W.,
E. Kraus, K. Federlin,
P. Klein u. E.F. Pfeiffer: Studien zur Übertragung der Masugi-Nephritis der Ratte. VII. Weitere fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an Parabionten und nephritischen Einzeltieren, Z.ges.exp.Med. (im Druck)
- Ogawa, S. u. Y. Sato: Über das Verhalten des Komplementgehaltes im Serum im Laufe der experimentellen Glomerulonephritis, Transact. Jap. Path. Soc. 28, 212 (1938)
- Paterson, P.Y.,
S.M. Harwin und
N.C. Didakow: Acquired resistance to allergic encephalomyelitis and the role of a serum factor, J. chin Invest. 40, 1069 (1961)
- Pearce, R.M.: Experimental study of Nephrotoxin, Univ. Pennsylvania Med. Bull. 16, 217 (1904)
- Pfeiffer, E.F.,
K. Schöffling und
H.E. Bruch: Serumkomplement und Masugi-Nephritis der Ratte, Verh. Dtsch. Ges. Inn.Med. 59, 453 (1953)
- Pfeiffer, E.F.,
K. Schöffling, H.E. Bruch
und W. Spielmann: Masugi-Nephritis und Serumkomplement. (Speciesbedingte Unterschiede im pathogenetischen Mechanismus der Masugi-Nephritis von Ratte und Kaninchen), Z.ges.exp.Med. 122, 446 (1954)
- Pfeiffer E.F.,
K. Schöffling,
W. Sandritter, J.Schröder,
H. Steigerwald und
L. Wolf: Studien zur Übertragung der Masugi-Nephritis der Ratte. Die Übertragung durch kurzdauernde Parabiose. Z. ges. exp. Med. 124, 471 (1954)

- Pfeiffer, E.F.: Die Bedeutung der tierexperimentellen Glomerulonephritis für das Verständnis der menschlichen Nephritispathogenese, Habil.Schr. Frankf./M. 1955
- Pfeiffer, E.F.,
H. Ditschuneit, I.Otto,
W. Menk, W.Sandritter
und O. Schulenburg: Der immunologische Mechanismus der Übertragung von experimenteller Glomerulonephritis und Panophthalmitis mit Hilfe des Parabioseversuchs, Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 65, 450 (1959)
- Pfeiffer, E.F.;
W. Sandritter,
K.Schöffling, G. Treser,
E. Kraus, W. Menk
und M. Herrmann: Studien zur Übertragung der Masugi-Nephritis der Ratte. II. Die Übertragung durch Parabiose genetisch gleichartiger Partner, Z.ges.exp. Med. 132, 436 (1960)
- Pfeiffer, E.F.,
H. Ditschuneit,
K. Federlin, I. Mosler,
R. Ohebschalon und
W. Sandritter: Immunelektrophoretische und fluoreszenz-mikroskopische Untersuchungen an der durch Parabiose übertragenen experimentellen Glomerulonephritis der Ratte, Klin.Wschr. 38, 611 (1960)
- Pfeiffer, E.F.: Further studies on secondary nephritis and ophthalmitis producing factor (s) (NPF and OPF) in cytotoxic glomerulonephritis and panophthalmitis, IV. Intern. Allergy Congr. New York 1961, Progr. Abstr.Nr. 94
- Pfeiffer, E.F. und
J.P. Merrill: Der Faktor der Autoaggression in der Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis, Dtsch.Med.Wschr. 87, 934 (1962)
- Pressman, D. und
G. Keighley: The zone of activity of antibodies as determined by the use of radioactive tracers; The zone of activity of nephrotoxic antikidney serum, J. Immunol. 58, 141 (1948)
- Pressman, D. und
B. Sherman: The zone of localization of antibodies: XI. The in vivo purification of kidney-localizing-anti-kidney-antibody, J. Immunol. 67, 15 (1951)
- Pressman, D. und
B. Sherman: The zone of localization of antibodies: XII Immunological specificities and cross reactions in the vascular beds of liver, kidney and lung, J. Immunol. 67, 21 (1951)
- Ranzi, E. und
H. Ehrlich: Über die Wirkung von Toxinen und die Bildung von Antikörpern bei parabolischen Tieren, Z. Immun. Forsch. 1909, S. 583
- Rother, K.: Über die Pathogenese verschiedener Formen experimenteller Nephritis, Arch.Exper. Pharm. 220, 448 (1953)

- Rother, K. und
H. Sarre: Untersuchungen zur pathogenetischen Bedeutung
der Autoantikörper: Einseitige experimentelle
chronische Glomerulonephritis, Klin.Wschr. 1962,
429
- Rotter, W.: Das morphologische Gewebssubstrat bei gestörter
Durchblutung, in : Angiologie, hrsg. v.
M. Ratschow. Thieme 1959 (b)
- Sandritter, W., E.Kraus,
G. Treser, W. Menk,
M. Herrmann, K.Schöffling
und E.F. Pfeiffer: Studien zur Übertragung der Masugi-Nephritis der
Ratte. III. Die Übertragung der chronischen
Glomerulonephritis durch Parabiose genetisch
gleichartiger Partner, Z.ges.exp.Med. 132, 453
(1960)
- Sarre, H. u. H. Wirtz: Geschwindigkeit und Ort der Nephrotoxinbindung
bei der experimentellen Glomerulonephritis,
Klin.Wschr. 1939, 1548.
- Sarre, H. u. H. Wirtz: Geschwindigkeit u.Ort der Antigen-Antikörper-
Reaktion bei der experimentellen Nephritis,
Dtsch.Arch.Klin.Med. 189, 1 (1942)
- Sarre, H.: Die Pathogenese der menschlichen diffusen
Glomerulonephritis, Dtsch.Med.Wschr. 1939, 1661
- Sarre, H.: Die Durchblutung der Niere bei der experimentellen
diffusen Glomerulonephritis, Dtsch.Arch.Klin.Med.
183, 515 (1939)
- Sarre, H.: Immunbiologische Vorgänge bei der akuten diffusen
Glomerulonephritis, Dtsch.Med.Wschr. 1952, 1158
- Sarre, H. u. K. Rother: Autoantikörper in der Nierenpathologie,
Klin.Wschr. 1954, 410
- Schöffling, K.,
K. Federlin,
J. Linnenkohl,
J. Quindodoz und
E.F. Pfeiffer: Studien zur Übertragung der Masugi-Nephritis
der Ratte. Versuch der Übertragung durch
Transfusion von Serum, Lymphocyten und
Milzsuspensionen nephritiskranker auf gesunde
Ratten (in Vorb.)
- Seegal, B.C. und
E.N. Loeb: The production of chronic glomerulonephritis in
rats by injection of rabbit-anti-rat-placenta-serum,
J. Exper.Med. 84, 211 (1946)
- Seegal, B.C.: Localization of rabbit and duck anti-kidney-
antibodies, Proc. 9 th. Ann. Conf.Nephrr.Syndr. 1
(1957)
- Smadel, J.E. und
H.F. Swift: Experimental nephritis in rats induced by
injection of anti-kidney-serum: Chronic nephritis
of insidious development following apparent
recovery from acute nephrotoxic nephritis,
J. Exper.Med. 74, 345 (1941)

- Solomon, D.H.,
J.W. Gardella, H.Fanger,
F.M.Dethier und
J.W. Ferrebee:
Nephrotoxic nephritis in rats, evidence for the
glomerular origin of the kidney antigen,
J.Exper.Med. 90, 267 (1949)
- Spühler, O.,
H.U.Zollinger und
M. Enderlin:
Zum Mechanismus der Masugi-Nephritis,
Schweiz.Med.Wschr. 38, 904 (1951)
- Strehler, E.:
Glomerulonephritis und Endocarditis bei
Kaninchen bei Injektion von Immuneserum gegen
Aorta, Verh.Dtsch.Ges. Inn.Med. 1950
- Strehler, E.:
Bemerkungen zur Pathogenese und Prophylaxe der
Glomerulonephritis, Schweiz.Med.Wschr. 1951, 30
- Swift, H.F. und
J.E. Smael:
IV. Prevention of the injurious effects of
nephrotoxin in vivo by kidney extract,
J. Exper.Med. 65, 557 (1937)
- Takenomata, N.:
Experimenteller Beitrag zur Pathogenese der
Streptokokkennephritis
Mitt.Path.Inst.Univ.Sendai 2, 15 (1923)
- Tsuji, S.:
Ein Beitrag zur Frage der immuncytotoxischen
Glomerulonephritis, Beitr. path. Anat. Jena 98,
425 (1936, 37)
- Wilson, G.W. und
J. Oliver:
J. Exper.Med. 26, 139 u. 153 (1917)
- Wilson, G.W. und
J. Oliver:
Experiments of prodcution of specific antisera
for infections of unknown cause. III. Nephrotoxins:
Their specifity as demonstrated by method of
selective absorption, J. Exper. Med. 32, 183 (1920)

VIII. LEBENSLAUF

Am 29.4.1936 wurde ich in Dreieichenhain,
Kreis Offenbach a.M. als Sohn des Bankbeamten
Daniel Stroh und seiner Ehefrau Emilie Stroh,
geb. Neubecker, geboren.

Ich besuchte die Volksschule meines Geburtsortes
von 1942 bis 1946 und das Realgymnasium Langen
von 1946 bis 1956.

Das Medizinstudium begann ich im Mai 1956 an der
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt a.M.
Im Sommer 1958 legte ich das Physikum ab, am
28. Februar 1962 bestand ich das medizinische
Staatsexamen.

Während der Medizinalassistentenzeit arbeitete ich
im Krankenhaus Bethanien im Prüfling in Frankfurt a.M.,
an der I. Medizinischen und der Chirurgischen
Universitätsklinik Frankfurt a.M. Zur Zeit bin ich
in der Gynäkologischen Abteilung des Kreiskrankenhauses
Gelnhausen tätig.

Frankfurt a.M., den 26.9.1964

Helmut Arol

E h r e n w ö r t l i c h e E r k l ä r u n g
=====

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen
Fakultät Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereich-
te Arbeit mit dem Titel

Transport und Bindung von Nephrotoxinen
und nephritisauslösenden Faktoren bei
der einseitigen Nierenentzündung des
Kaninchens

in der endokrinologischen Abteilung
(Leiter: Prof. Dr. E. F. Pfeiffer) der I. Medizinischen
Universitätsklinik (Direktor: Prof. Dr. F. Hoff) unter Leitung
von Herrn Prof. Dr. K. Schöffling mit Unterstützung durch
Herrn Prof. Dr. E. F. Pfeiffer ohne sonstige Hilfe selbst
durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen
als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt
habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen
Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht,
noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation
vorgelegt.

Frankfurt a.M., den 26.9.1964

Helmut Stohl

Verzeichnis meiner akademischen
Lehrer:

=====

Prof. Dr. Starck	Anatomie
Prof. Dr. Ortmann	Histologie
Prof. Dr. Wezler	Physiologie
Prof. Dr. Felix	Physiologische Chemie
Prof. Dr. Czerny	Physik
Prof. Dr. Royen	Anorganische Chemie
Prof. Dr. Wieland	Organische Chemie
Prof. Dr. Halbsguth	Botanik
Prof. Dr. Giersberg	Zoologie
Prof. Dr. Artelt	Geschichte der Medizin
Prof. Dr. Kahlau	Allgemeine Pathologie
Prof. Dr. Sandritter	Spezielle Pathologie
Prof. Dr. Hoff	Innere Medizin
Prof. Dr. Geißendörfer	Chirurgie
Prof. Dr. Schwenzer	Geburtshilfe und Frauenheilkunde
Prof. Dr. de Rudder	Pädiatrie
Prof. Dr. Thiel	Augenheilkunde
Prof. Dr. Mittermaier	Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde
Prof. Dr. Zutt	Neurologie und Psychiatrie
Prof. Dr. Herzberg	Hygiene und Bakteriologie
Prof. Dr. Landes	Dermatologie
Prof. Dr. v. Reckow	Zahnheilkunde
Prof. Dr. Wiethold	Gerichtsmedizin
Prof. Dr. Güntz	Orthopädie
Prof. Dr. Holtz	Pharmakologie
Prof. Dr. Betke	Arbeits- und Sozialhygiene
Prof. Dr. Schmith	Gesundheitsfürsorge
Prof. Dr. Rajewky	Strahlenheilkunde

